

Universidade Nova de Lisboa

Faculdade de Ciências e Tecnologia

Departamento de Ciências e Engenharia do Ambiente

**Contribuição para o estudo da utilização de materiais
fotocatalíticos para a degradação de cianobactérias e
microcistinas em massas de águas naturais**

Carolina de Barros Bruno

Dissertação apresentada na Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de
Lisboa para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia do Ambiente,
Perfil Engenharia Sanitária

Orientadora: Prof^a Doutora Maria da Conceição Carrilho Raimundo dos Santos

Co-Orientadora: Prof^a Doutora Susana Isabel dos Santos Silva Sérgio Venceslau

Lisboa

2011

Agradecimentos

À Prof^a Doutora Maria da Conceição Carrilho Raimundo dos Santos pela sugestão do tema extremamente actual e pela orientação durante a realização da presente dissertação;

À Prof^a Doutora Susana Isabel dos Santos Silva Sérgio Venceslau pelos materiais fotocatalíticos cedidos e pela constante disponibilidade para esclarecimento de dúvidas;

À Engenheira Helena Muelle pelo apoio incondicional durante a realização dos ensaios e pelo interesse que sempre manifestou por todo o trabalho experimental e teórico;

À D. Luísa e à D. Adélia pelo apoio, solicitude e companhia durante as estadias no laboratório;

Ao grupo de investigação do Centro de Física e Investigação Tecnológica na Linha 2 – Física Molecular, Plasmas e Aplicações (CEFITEC-FCT/UNL) pelo desenvolvimento e caracterização dos materiais fotocatalíticos utilizados neste estudo;

A todos os amigos que, de uma forma ou de outra, contribuíram para a realização desta dissertação.

Resumo

As cianobactérias e as suas toxinas tornaram-se rapidamente em importantes contaminantes da água afectando os aspectos ambiental, social e económico da vida contemporânea. O crescente número de episódios de intoxicação relacionados com as cianotoxinas impulsionou o interesse científico pelo desenvolvimento de métodos de tratamento de água apropriados. Um processo de oxidação avançada que despertou grande interesse nos investigadores foi a fotocatalise com dióxido de titânio. É uma tecnologia pouco dispendiosa que alia características atractivas sob o ponto de vista ambiental com uma elevada eficiência de degradação de contaminantes orgânicos e facilidade de implementação e utilização.

Na presente dissertação foi estudado o efeito, à escala laboratorial, da aplicação de materiais fotocatalíticos à base de dióxido de titânio irradiados com luz UV e solar sobre a microcistina-LR como opção de tratamento de água.

Na primeira parte do trabalho procedeu-se à revisão extensiva das opções de gestão e tratamento para a redução de cianobactérias e cianotoxinas, dando-se ênfase ao processo de fotocatalise heterogénea. Seguidamente analisaram-se os resultados obtidos no trabalho experimental concluindo-se que, a degradação da microcistina-LR foi pouco significativa nos ensaios com radiação UV.

Nestes ensaios, o elevado valor de pH, a inadequação da fonte luminosa, os tempos de exposição muito curtos e o grande volume de solução face à reduzida área superficial do catalizador poderão estar na origem da baixa degradação observada.

No ensaio com radiação solar, verificou-se a ausência de degradação da microcistina-LR nas condições experimentais devido, provavelmente, à fonte luminosa utilizada que não era a apropriada para a activação do fotocatalizador.

Apesar de promissor, este processo de tratamento é influenciado por inúmeros factores, pelo que é imperativo proceder à sua optimização para a obtenção de taxas de degradação aceitáveis.

Palavras-Chave: Microcistina-LR; Dióxido de Titânio; Remoção/Degradação; Fotocatálise Heterogénea; Radiação; Imobilização

Abstract

Cyanobacteria and their toxins have rapidly become major water contaminants which affect the environmental, social and economic aspects of contemporary life. The increasing number of intoxication episodes related to cyanotoxins boosted the scientific interest in the development of appropriate water treatment methods. An advanced oxidation process which aroused great interest in research was the titanium dioxide photocatalysis. It is an inexpensive technology that combines attractive features from the environmental point of view with a high degradation efficiency of organic contaminants and ease of implementation and use.

This dissertation focuses on the effects, at lab-scale, of the application of photocatalytic materials titanium dioxide based irradiated with UV light and sunlight on microcystin-LR as a water treatment option.

The first part of this work presents a broad review of management and treatment options to reduce cyanobacteria and cyanotoxins, giving emphasis to the process of heterogeneous photocatalysis.

The results were subsequently analyzed and it was concluded that microcystin-LR degradation was negligible in UV radiation experiments.

In these experiments, the degradation was considered low due to the neutral pH solution, the inappropriate light source, the short time of exposure and the solution volume which was too large for the catalyst surface area.

In the solar radiation test no degradation was observed, probably due to the unsuitable light source which wasn't able to activate the photocatalyst used.

Although promising, this water treatment process is influenced by many factors, so it is important to optimize them in order to achieve acceptable degradation rates.

Keywords: Microcystin-LR; Titanium Dioxide; Removal/Degradation; Photocatalysis; Radiation; Immobilization

Símbolos e notações

%	percentagem
µg	micrograma
A	ampére
Cl ⁻	ião Cloreto
Cl ₂	Cloro molecular
cm	centímetro
e ⁻	electrão
eV	electrão -volt
h	hora
H ⁺	ião de Hidrogénio
h ⁺	lacuna
H ₂ O	Água
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogénio
HO ₂ [•]	Perhidroxilo
J	joules
klx	kilolux
kPa	kiloPascal
L	litro
m	metros
mg	miligramas
min	minutos
mol	moles
ng	nanogramas
nm	nanómetros
O ₂	Oxigénio molecular
O ₃	Ozono
°C	grau Celsius
OH [•]	Radical Hidroxilo
pg	picograma
s	segundos
SO ₄ ²⁻	Radical sulfato
Ti	Titânio
TiO ₂	Dióxido de Titânio
W	watt

Abreviaturas

BC	Banda de Condução
BV	Banda de Valência
CAG	Carvão Activado granulado
CAP	Carvão Activado em pó
COD	Carbono Orgânico Dissolvido
COT	Carbono Orgânico Total
ETA	Estação de Tratamento de Água
FAD	Flotação por ar dissolvido
LPS	Lipopolissacarídeos
m.o.	matéria orgânica
MC-LR	Microcistina-LR
MF	Microfiltração
NF	Nanofiltração
OI	Osmose Inversa
POA	Processo Oxidativo Avançado
UF	Ultrafiltração
UV	Ultravioleta
OMS	Organização Mundial da Saúde

Índice de Matérias

Agradecimentos.....	i
Resumo	ii
Abstract	iii
Símbolos e notações.....	iv
Abreviaturas	v
Índice de Figuras.....	viii
Índice de Quadros.....	ix
1. Enquadramento e objectivos	1
2. Introdução	3
2.1. Eutrofização	3
2.2. Cianobactérias	3
2.3. Cianotoxinas.....	7
2.3.1. Microcistinas.....	11
3. Opções de Gestão e Tratamento de Águas para Consumo Humano	15
3.1. Tratamentos Convencionais	16
3.1.1. Coagulação-Floculação	16
3.1.2. Decantação	17
3.1.3. Filtração (rápida, lenta e em margens)	18
3.1.4. Adsorção por Carvão Activado	20
3.1.5. Oxidação por Permanganato de Potássio	23
3.1.6. Cloração	24
3.1.7. Sequências de Tratamentos Convencionais	25
3.2. Tratamentos Avançados	27
3.2.1. Filtração por membranas	27
3.2.2. Ozonização.....	29
3.2.3. Fotólise UV.....	31
3.2.4. Processos Oxidativos Avançados.....	33
4. Fotocatálise heterogénea (UV/TiO ₂)	39

4.1.	Reacção fotocatalítica.....	39
4.2.	Factores que influenciam o processo	42
4.2.1.	Fotocatalizador	42
4.2.2.	Concentração inicial do contaminante orgânico.....	44
4.2.3.	Características da fonte luminosa	44
4.2.4.	Efeito da temperatura	45
4.2.5.	Efeito do pH	45
4.2.6.	Forma do rector.....	45
4.2.7.	Presença de oxigénio.....	46
4.3.	Imobilização	46
4.4.	Luz Solar (visível + UV)	48
4.5.	Fotocatálise aplicada à degradação da MC-LR	49
4.6.	Fotocatálise aplicada à degradação da MC-LR com recurso à luz solar (UV + visível)	52
5.	Materiais e Métodos	55
5.1.	Amostras utilizadas.....	55
5.2.	Caracterização dos filmes finos	55
5.3.	Determinação dos parâmetros pH e iluminância	56
5.4.	Ensaio de degradação da MC-LR com recurso à radiação UV	56
5.5.	Ensaio de degradação da MC-LR com recurso a radiação solar	57
5.6.	Extracção e quantificação da MC-LR.....	59
6.	Resultados e Discussão	63
6.1.	Ensaio de degradação com recurso à radiação UV	63
6.2.	Ensaio de degradação com recurso à radiação solar	69
7.	Conclusões.....	73
8.	Perpectivas Futuras	77
	Referências Bibliográficas.....	79

Índice de Figuras

Figura 2.1 – Estrutura química da microcistina-LR.....	12
Figura 4.1 – Mecanismo simplificado para a fotoactivação do catalizador	40
Figura 4.2 – Estrutura cristalina da (a) anatase e do (b) rutilo.....	43
Figura 4.3 - Fotografia da câmara de vácuo instalada no laboratório de Plasmas e Aplicações que foi utilizada para a produção de filmes finos	47
Figura 4.4 - Produção de filmes finos por pulverização catódica.....	48
Figura 4.5 – Efeito do pH na superfície do TiO_2 e na microcistina-LR.....	50
Figura 4.6 – Possíveis locais de ataque do TiO_2 à microcistina-LR.....	51
Figura 5.1 – (a) Esquema do ensaio de degradação da MC-LR com recurso à radiação UV e (b) fotografia pormenorizada do suporte de teflon colocado no interior do copo	57
Figura 5.2 – Ensaio de degradação da MC-LR realizados na câmara de cultura	59
Figura 5.3 – Espectro UV-Vis da microcistina-LR (a pH 5.7)	60
Figura 6.1 – Ensaio 1 e 2 com TiO_2 em suporte inerte	64
Figura 6.2 – Ensaio de degradação da MC-LR com recurso ao espectro solar.....	71

Índice de Quadros

Quadro 2.1 – Aspectos gerais das cianotoxinas	8
Quadro 2.2 – Toxicidade de várias cianotoxinas	12
Quadro 3.1 – Classificação dos Processos Oxidativos Avançados.....	33
Quadro 5.1 – Características do filme de TiO_2 utilizado.....	55
Quadro 6.1 – Resultados do ensaio 1 com TiO_2 em suporte inerte	63
Quadro 6.2 – Resultados do ensaio 2 com TiO_2 em suporte inerte	64
Quadro 6.3 – Resultados do Ensaio em Branco (recurso a radiação solar sem TiO_2).....	70
Quadro 6.4 – Resultados do Ensaio com TiO_2 e radiação solar	70
Quadro 6.5 – Resultados do Ensaio no Escuro (sem radiação e TiO_2)	70

1. Enquadramento e objectivos

A eutrofização das massas de água é um processo natural, actualmente acelerado pelas actividades antropogénicas, que provocam um aumento da afluência de nutrientes (azoto e fósforo) e conduzem ao aumento da produtividade primária e à consequente degradação da qualidade das mesmas, condicionando a sua utilização para determinados fins – nomeadamente a produção de água para consumo humano. As descargas de efluentes domésticos, urbanos e industriais, bem como as escorrências de campos agrícolas contendo fertilizantes e alguns pesticidas, estão entre os principais factores que contribuem para esse enriquecimento (Vasconcelos & Pereira, 2002), agravadas por uma incorrecta gestão dos recursos hídricos (Vasconcelos, 1995).

O aumento da eutrofização provoca, normalmente, o desenvolvimento de florescências fitoplanctónicas (*blooms*) que não são totalmente consumidas pelo zooplâncton, pois estes organismos possuem menores taxas de reprodução, não atingindo densidades suficientes para remover o fitoplâncton. Para além disso, certos grupos fitoplanctónicos apresentam dimensões incompatíveis com a capacidade de ingestão do zooplâncton (Vasconcelos, 1995).

O grupo com maior prevalência, durante a ocorrência de *blooms* de fitoplâncton é, geralmente, o das cianobactérias (Vasconcelos, 1995).

Desde há muito que as cianobactérias têm sido discutidas na literatura científica devido ao facto de algumas delas possuírem capacidade de fixação de azoto molecular e serem dos organismos responsáveis pelo enriquecimento da atmosfera em oxigénio. Contudo, nos últimos vinte anos, os investigadores têm-se focado na sua capacidade de produzir uma grande variedade de toxinas, potencialmente fatais não só para animais mas também para o ser humano (Svrcek & Smith, 2004).

O primeiro registo científico de intoxicação por cianobactérias é da autoria de George Francis que, em 1878, descreveu a morte de diferentes animais domésticos, pertencentes a uma pecuária no sul da Austrália, após a ingestão de água do Lago Alexandrina onde ocorria um *bloom* de *Nodularia spumigena* (Falconer, 2005). Embora este pareça ter sido o primeiro relato de envenenamento por cianobactérias, no folclore aborígine da Austrália e do Canadá existem indícios que associam os *blooms* a problemas de saúde em populações de animais e seres humanos (Svrcek & Smith, 2004; Codd *et al.*, 1999).

Em 1996, em Caruaru, no Brasil, 76 pessoas morreram numa unidade de hemodiálise que utilizava água proveniente de uma fonte contaminada por um *bloom*. As autópsias

confirmaram que a causa de morte em 52 destes pacientes foi insuficiência hepática ocorrida na sequência da diálise (Falconer, 2005).

Embora possam existir muitas vias de exposição - ingestão de água, inalação, contacto dérmico, hemodiálise e a ingestão de suplementos de algas - a forma mais comum e mais insuspeita é através da ingestão de água, quer na satisfação das necessidades diárias, quer de forma accidental (Svrcek & Smith, 2004). Por esta razão, a legislação em vigor faz referência às toxinas das cianobactérias, mais concretamente o Decreto-Lei nº 306/2007, de 27 de Agosto, estabelece a microcistina-LR total equivalente como parâmetro indicativo, fixando o valor paramétrico de 1 µg/L. No entanto, a utilização da água em tratamentos hospitalares específicos, como é o caso da hemodiálise, requer regulamentação mais rigorosa (Svrcek & Smith, 2004).

A elevada toxicidade das cianotoxinas e o seu impacto nos aspectos ambiental, social e económico da vida contemporânea impulsionaram o interesse científico pelo desenvolvimento de métodos de detecção, caracterização e tratamento dessas toxinas (Antoniou *et al.*, 2008b). Neste domínio, tem vindo a ser publicado um manancial de informação que faz referência tanto a processos de tratamento convencionais como a tecnologias mais modernas, tais como os processos oxidativos avançados (POAs).

Um dos POAs que despertou grande interesse nos investigadores foi a fotocatalise heterogénea. É uma tecnologia amiga do ambiente, pouco dispendiosa, que não recorre a aditivos químicos e não produz resíduos perigosos (Antoniou *et al.*, 2008b).

A maioria dos estudos relacionados com fotocatalise heterogénea utiliza nanopartículas de dióxido de titânio (TiO₂) adicionadas em solução para a destruição das toxinas. No entanto, a aplicação do catalizador na forma de pó requer tratamento adicional para a remoção das partículas do TiO₂, tornando este processo mais demorado e com um custo associado superior. (Feng *et al.*, 2005; Antoniou, 2010). Uma forma de ultrapassar esta desvantagem é utilizando o catalizador imobilizado num suporte inerte, isto é, recorrendo a filmes de TiO₂.

A presente dissertação tem como objectivo contribuir para o estudo do efeito da aplicação de um filme fino de TiO₂ irradiado com radiação UV e luz solar sobre a microcistina-LR. O material fotocatalítico foi desenvolvido e caracterizado no Centro de Física e Investigação Tecnológica (CEFITEC), na Linha 2 – Física Molecular, Plasmas e Aplicações.

Previamente procedeu-se à revisão extensiva das opções de gestão e tratamento das cianobactérias e suas toxinas dando ênfase ao recurso a materiais fotocatalíticos à base de TiO₂ para destruição das microcistinas.

2. Introdução

2.1. Eutrofização

A eutrofização de massas de água de superfície é um dos mais prementes problemas de qualidade da água que se colocam na actualidade.

Definida como um processo natural de envelhecimento das massas de água, a eutrofização resulta de um incremento da produção biológica provocada pelo aumento dos níveis de nutrientes, especialmente azoto e fósforo. Este processo engloba várias fases distintas sendo caracterizado pela evolução de uma massa de água desde a oligotrofia até à eutrofia/hipertrofia – diferentes estados tróficos distinguíveis em termos de concentrações de azoto e fósforo e de densidade de populações fitoplanctónicas (Wetzel, 1993; Wassmann & Olli, 2004). É um processo lento (decorre ao longo milhares de anos), mas pode ser acelerado por acção humana através da destruição do equilíbrio natural – eutrofização cultural (Vasconcelos, 1999; Andrade, 2007). As descargas de efluentes domésticos, urbanos e industriais, bem como as escorrências de campos agrícolas com pesticidas e fertilizantes, estão entre os principais factores que contribuem para esse enriquecimento (Vasconcelos & Pereira, 2002), situação agravada por uma incorrecta gestão dos recursos hídricos (Vasconcelos, 1995). A construção de barragens também tem sido apontada como aceleradora do processo (Vasconcelos, 2006).

O incremento da eutrofização leva normalmente ao desenvolvimento da biomassa fitoplanctónica que, apesar de ser um componente natural dos ecossistemas aquáticos, sob condições ambientais favoráveis ou sob a influência antropogénica pode atingir taxas de crescimento elevadas proliferando rapidamente e dando origem a fenómenos conhecidos por *blooms*. Embora exista uma grande variedade de grupos de fitoplâncton capazes de formar *blooms*, como as clorófitas, os dinoflagelados e as diatomáceas, o grupo com maior sucesso é, geralmente, o das cianobactérias (Vasconcelos, 1999).

2.2. Cianobactérias

As cianobactérias pertencem ao reino Monera, divisão Eubacteria e classe Cyanobacteria (Ressom *et al.*, 1994). São um grupo ancestral de organismos procariotas (ausência de núcleo e o nucleoplasma não é revestido por uma membrana dupla), que se distribuem em todo o mundo em ambientes tão diversos como as águas costeiras do Antártico, nascentes quentes de origem vulcânica e até mesmo em locais onde nenhum outro tipo de vegetação consegue subsistir (Svercek & Smith, 2004), podendo ser planctónicos ou bênticos (Andrade, 2007; Codd *et al.*, 1999).

Ao contrário das bactérias, as cianobactérias possuem clorofila-*a* em comum com os eucariontes fotossintéticos (algas), o que lhes permite realizar a fotossíntese (Svercek & Smith, 2004). Contrariamente aos eucariotas, que realizam a fotossíntese nos cloroplastos (organelos especializados), as cianobactérias possuem os pigmentos fotossintéticos nos tilacóides (Chorus & Bartram, 1999). Para além de clorofila-*a* e da ficocianina, pigmentos responsáveis pela cor azul-verde de muitas espécies (Falconer, 2005; Svercek & Smith, 2004), também podem estar presentes outros pigmentos, particularmente carotenos e ficoeritrinas (Falconer, 2005; Mankiewicz *et al.*, 2003).

Em termos de nutrição, as cianobactérias são fotoautotróficas, requerendo apenas luz, CO₂, N₂, água e alguns minerais (Svercek & Smith, 2004), podendo, no entanto, sobreviver de um modo heterotrófico em locais com pouca ou nenhuma luminosidade (Moore *et al.*, 1995; Hitzfeld *et al.*, 2000; Chorus, 2001).

A fixação do azoto molecular é uma característica importante de algumas espécies, de géneros como *Anabaena*, *Aphanizomenon* e *Nostoc*, que possuem heterocistos (Falconer, 2005; Chorus & Bartram, 1999). Algumas, contudo, parecem conseguir fixar o azoto atmosférico sem a presença de heterocistos visíveis, pelo facto de se desenvolverem em condições anaeróbias (Falconer, 2005). Nem todas as cianobactérias tóxicas têm capacidade de fixação de azoto; como é o caso do género mais comum de cianobactérias *Microcystis spp.* (Svercek & Smith, 2004). Estes organismos podem também apresentar células de resistência a condições ambientais adversas, denominados acinetos, conferindo-lhes vantagens competitivas relativamente a outros grupos distintos de organismos (Vasconcelos, 1999; Falconer, 2005).

As cianobactérias estão presentes em massas de água numa gama ampla de temperatura e salinidade e ocasionalmente surgem no solo, bem como em rochas e nas suas fissuras (Svercek & Smith, 2004; Falconer, 2005). Também já foram observadas colónias na neve e no gelo a grandes altitudes do Alasca e em glaciares dos Himalaias (Takeuchi, 2001; Takeuchi *et al.*, 2001). Porém são mais abundantes em águas com um pH neutro ou ligeiramente alcalino e que apresentem variações diurnas devidas à baixa capacidade tampão (isto é, águas que sofrem grandes variações de pH) (Svercek & Smith, 2004). Muitas apresentam vesículas gasosas que permitem a regulação de flutuação e o seu movimento vertical na coluna de água em meios hídricos estratificados (Svercek & Smith, 2004), conseguindo migrar para as camadas mais profundas e ricas em nutrientes ou posicionar-se na zona eufótica onde podem realizar a fotossíntese (Chorus & Bartram, 1999; Vasconcelos, 1999). As células das cianobactérias podem variar entre 3 e 10 µm (Health Canada, 2002) dependendo das espécies, e apresentar-se sob a forma de organismos unicelulares ou agregadas em colónias irregulares cuja morfologia varia com os factores de crescimento

ambientais (Carmichael, 2001). As formas unicelulares apresentam células esféricas ou cilíndricas que se reproduzem por fissão binária ou por fragmentação de tricomas (Mur *et al.*, 1999; Hoek *et al.*, 1995). O tempo de duplicação médio de algumas espécies varia entre 21 horas e 14,7 dias e o tempo médio para espécies que formam *blooms* é de 2 dias, em condições óptimas. Contudo, esta situação persiste apenas por um curto espaço de tempo, em geral 5 a 7 dias (Svercek & Smith, 2004).

As cianobactérias integram muitos ecossistemas onde não causam problemas (Chorus & Bartram, 1999). Contudo, há um pequeno grupo que produz toxinas as quais afectam populações humanas e animais. Inicialmente julgava-se que os casos de toxicidade se restringiam às formas planctónicas, no entanto, as bênticas, que formam camadas superficiais nas massas de água, também demonstraram ser tóxicas (Edwards *et al.*, 1992; Carmichael, 1997; Carmichael *et al.*, 1997; Mez *et al.*, 1997; Baker *et al.*, 2001).

As cianobactérias tóxicas actualmente conhecidas englobam cerca de 40 espécies (Svercek & Smith, 2004; Westrick *et al.*, 2010). Entre todas elas, o género *Microcystis*, é o que predomina.

Embora a sua presença seja constante nas massas de água, apenas constituem um problema de saúde pública durante as *blooms*, devido à acumulação densa de células na massa de água. É nesta altura e também durante a morte e a lise das células que as toxinas podem ser libertadas na massa de água.

A formação dos *blooms* de cianobactérias é favorecida pelos seguintes factores (Chorus & Bartram, 1999; Carmichael, 1994; NHMRC & ARMCANZ, 2001):

- Massas de água parada, com pouca turbulência ou estratificadas;
- Temperatura de água entre 15 e 30°C;
- pH neutro a alcalino (pH 6 a 9);
- Condições eutróficas, nomeadamente aumento das concentrações de fósforo e azoto.

Têm sido realizados muitos estudos com o objectivo de determinar a relação existente entre os nutrientes, o crescimento de fitoplâncton e a relativa abundância de cianobactérias (Falconer, 2005). Porém, não existe consenso em relação às quantidades absolutas e relativas de azoto e de fósforo, bem como às formas destes nutrientes necessárias para se iniciar um *bloom* de cianobactérias produtoras de toxinas (Xie *et al.*, 2003; Svercek & Smith, 2004). Acima de determinados valores absolutos destes nutrientes, as quantidades relativas começam a perder significado todavia, razões baixas de azoto e fósforo podem favorecer a formação de *blooms* de cianobactérias que fixam o azoto (Falconer, 2005; Xie *et al.*, 2003). A regulação dos níveis de fósforo pode revelar alguma eficácia no controlo de *blooms* de

Microcystis spp., que necessitam de ambos os nutrientes para se desenvolverem (Svercek & Smith, 2004).

Nas condições propícias à formação de *blooms* anteriormente descritas, as populações de cianobactérias desenvolvem-se com maior sucesso do que as de algas e podem dominar rapidamente uma massa de água doce. Nestes *blooms* têm sido reportadas concentrações de células de cianobactérias com mais de 25×10^4 células/mL (aproximadamente 30mg/L biomassa) (Lahti *et al.*, 1997), com concentrações de microcistinas extracelulares que variam desde valores inferiores a 1,0 até 80 µg/L (Carmichael, 1997; Lahti *et al.*, 2001; Health Canada, 2002; Zurawell, 2002). Consideram-se altamente contaminadas as águas que apresentam concentrações totais de toxinas que variam desde 130 e 300 µg/L (Nicholson *et al.*, 1994), embora já tenham sido reportadas quantidades superiores em *blooms* muito densos (Sivonnen & Jones, 1999). As células das cianobactérias demonstraram conter uma média de 2 pg de toxinas por célula, com uma gama de valores situada entre 4 e 605 µg toxina/g biomassa de cianobactérias (Svercek & Smith, 2004).

Os *blooms* de cianobactérias podem ser constituídos por uma única espécie ou podem incluir várias espécies diferentes, das quais algumas podem ser tóxicas (Sivonnen & Jones, 1999). Mesmo num *bloom* formado por uma única espécie, podem ser encontradas estirpes tóxicas e não tóxicas. Segundo Fawell *et al.* (1993), 60 a 70% dos *blooms* de cianobactérias observados incluem estirpes produtoras de tóxicos. A toxicidade total de um *bloom* depende da concentração de células de estirpes tóxicas e da toxicidade relativa das toxinas das cianobactérias presentes; uma quantidade baixa de uma estirpe altamente tóxica entre estirpes predominantemente não tóxicas poderá originar uma amostra tóxica (Sivonnen & Jones, 1999).

Por outro lado, existem vários motivos pelos quais muitos *blooms* de cianobactérias produtoras de toxinas não parecem ser perigosos para os animais (Carmichael, 2001):

- Baixas concentrações de toxinas em espécies que constituem o *bloom*;
- Baixa concentração de biomassa no *bloom*;
- Variação da sensibilidade (susceptibilidade) da espécie receptora;
- Quantidade consumida pelos animais;
- Idade e sexo do animal;
- Quantidade de outros alimentos no intestino do animal para diluir na toxina.

2.3. Cianotoxinas

As toxinas são metabolitos secundários - não são utilizados pelos organismos para o seu metabolismo primário (divisão celular ou produção de energia) - sintetizados no interior das células de algumas espécies de cianobactérias e que apresentam um efeito nocivo sobre outros tecidos ou células de outros organismos (Svercek & Smith, 2004; Falconer, 2005). A razão pela qual as cianobactérias produzem toxinas ainda não foi totalmente esclarecida, pelo que os investigadores supõem tratar-se de transições evolutivas que podem funcionar como secreções protectoras, uma vez que algumas toxinas das cianobactérias são potentes inibidores dos invertebrados aquáticos (Carmichael, 1992b).

As toxinas formam-se em todas as fases de crescimento das cianobactérias, permanecendo normalmente na célula (denominada toxina intracelular) até que a idade ou o *stress* provoquem a sua libertação na água circundante (toxina extracelular) durante a lise celular (Sivonen & Jones, 1999; Vasconcelos, 1999). O conteúdo da toxina intracelular é geralmente mais elevado no final da fase do crescimento logarítmico e parece ter uma correlação positiva com a biomassa de cianobactérias (Carmichael, 2001). Há uma transição das toxinas intracelulares para as extracelulares, principalmente devido à libertação destas durante a lise celular que acompanha o declínio das florescências e a redução de biomassa de cianobactérias (Codd *et al.*, 1999; Mankiewicz *et al.*, 2003; Svercek & Smith, 2004).

Durante o crescimento das células jovens também se pode verificar a libertação de toxinas (Chorus & Bartram, 1999; Ransom *et al.*, 1994). Chiswell *et al.* (1999) e Carmichael *et al.* (2001) constataram que a cylindrospermopsina, uma toxina recentemente estudada, pode ser encontrada como toxina extracelular em concentrações mais elevadas que as restantes toxinas, em todos os estágios do ciclo de vida das cianobactérias que as produzem, sendo a causa deste fenómeno ainda desconhecida.

É de referir que diferentes espécies de cianobactérias são capazes de produzir diversas de toxinas, tornando-se difícil de detectar a origem de uma toxina em particular em florescências constituídas por múltiplas espécies (Svercek & Smith, 2004).

As cianotoxinas são classificadas em três grupos principais de acordo com a sua composição e estrutura química: péptidos cíclicos, alcalóides e lipopolissacarídeos (LPS) (Sivonen & Jones, 1999). Os diferentes grupos, a sua acção tóxica e os géneros de cianobactérias que as produzem são apresentados no Quadro 2.1.

Quadro 2.1 – Aspectos gerais das cianotoxinas (adaptado de Svercek & Smith, 2004)

Grupo de toxina	Efeito tóxico ou irritante	Género de cianobactéria produtora
Péptidos cíclicos		
Microcistina	Hepatotóxico	<i>Anabaena, Anabaenopsis, Aphanocapsa, Hapalosiphon, Microcystis, Nostoc, Oscillatoria</i>
Nodularia	Hepatotóxico	<i>Nodularia</i>
Alcalóides		
<i>Alcalóides neurotóxicos</i>		
Anatoxina-a	Neurotóxico	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Oscillatoria</i>
Anatoxina-a (S)	Neurotóxico	<i>Anabaena, Oscillatoria</i>
Saxitoxinas	Neurotóxico	<i>Anabaena Aphanizomenon, Cylindrospermopsis, Lyngbya</i>
<i>Alcalóides citotóxicos</i>		
Cylindrospermopsina	Citotóxico, hepatotóxico, neurotóxico e genotóxico	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Cylindrospermopsis, Umezakia</i>
<i>Alcalóides dermatotóxicos</i>		
Aplysiatoxina	Dermotóxico	Cianobactérias marinhas <i>Lyngbya, Schizothrix, Oscillatoria</i>
Debromoaplysiatoxina	Dermotóxico	<i>Lyngbya, Schizothrix, Oscillatoria</i>
Lyngbyatoxina-a	Dermotóxico, inflamação oral e gastrointestinal	<i>Lyngbya</i>
Lipopolissacarídeos (LPS)	Potencialmente irritantes a qualquer tecido exposto	Todas

Os LPS existentes quer na membrana externa da parede celular das cianobactérias quer das bactérias Gram-negativas são potencialmente irritantes podendo afectar qualquer tecido exposto ao meio onde se encontram (Svercek & Smith, 2004). Embora estejam pouco documentados, sabe-se que o grau de toxicidade aguda dos LPS de cianobactérias é 10 vezes inferior ao de outros LPS produzidos por bactérias, como por exemplo, por *Salmonella spp.* (Keevil, 1998; Codd *et al.*, 1999). Recentemente, alguns estudos sugerem que estas endotoxinas de origem cianobacteriana podem reforçar os efeitos adversos das microcistinas através da inibição de enzimas necessárias à desintoxicação destas hepatotoxinas (Best *et al.*, 2002).

Os alcalóides são um grupo variado de cianotoxinas, tanto em termos de estrutura química como de toxicidade (Sivonen & Jones, 1999). Estes são, na sua maioria, compostos heterocíclicos de azoto com pelo menos uma ligação azoto-carbono (Svercek & Smith, 2004).

Existem três famílias de alcalóides neurotóxicos (toxinas que afectam o sistema nervoso), as quais se encontram descritas na Quadro 2.1: anatoxina-a (e homoanatoxina-a), anatoxina-a(S) e saxitoxinas (também denominadas como PSP ou *paralytic shellfish poisons*) (Carmichael, 2001).

As toxinas alcalóides não-sulfatadas das cianobactérias de água doce (anatoxina e saxitoxina) são neurotóxicas. As PSP sulfatadas, as C-toxinas e as goniatoxinas (derivados sulfatados da saxitoxina) são também neurotóxicos, mas o alcalóide sulfatado da cylindrospermopsina é principalmente hepatotóxico, embora também afecte outros órgãos e se suspeite que também tenha efeitos genotóxicos (Sivonen & Jones, 1999; Humpage *et al.*, 2000; Codd *et al.*, 1999; Svercek & Smith, 2004).

A maior parte das neurotoxinas têm uma acção aguda - provocam efeitos adversos imediatos, mesmo em doses muito baixas; deste modo, a exposição crónica é pouco frequente (Svercek & Smith, 2004). Os sintomas de exposição à anatoxina-a incluem descoordenação motora, espasmos, dificuldades respiratórias nos animais, opistótono nas aves e morte imediata por paragem respiratória (Codd *et al.*, 1999). A morte por paragem respiratória pode ocorrer após alguns minutos ou várias horas, dependendo da espécie, da dose e consumo anterior de alimento (Carmichael, 1992b). A anatoxina-a e a anatoxina-a(S) interferem com a coordenação acetilcolina-acetilcolinesterase entre os neurónios e as células musculares, se bem que de forma um pouco diferente (Svercek & Smith, 2004; Andrade, 2007). Enquanto que a anatoxina-a simula a acetilcolina, ligando-se ao seu receptor e não permitindo a degradação pela acetilcolinesterase, a anatoxina-a(s) inibe a acção da acetilcolinesterase, impedindo a degradação da acetilcolina; ambas provocam sobre-estimulação muscular, induzindo espasmos e cólicas, seguidos de fadiga e paralisção. Se os músculos respiratórios forem afectados, o animal pode sofrer convulsões (provocadas por falta de oxigénio no cérebro) e morre por asfixia (Vasconcelos, 1999; Svercek & Smith, 2004; Codd *et al.*, 1999; Duy *et al.*, 2000). Além disso, a anatoxina-a(S) também provoca salivação excessiva, daí o sufixo (S) no nome (Svercek & Smith, 2004; Codd *et al.*, 1999).

A categoria final dos alcalóides neurotóxicos é constituída pelas saxitoxinas e pelas neosaxitoxinas também conhecidas como PSP (Carmichael, 2001). Este grupo de toxinas não é exclusivo das cianobactérias, sendo igualmente produzidas por *blooms* de dinoflagelados marinhos (Codd *et al.*, 1999). As saxitoxinas e neosaxitoxinas de acção rápida também provocam a disrupção do sistema nervoso, impedindo a libertação da acetilcolina pelos neurónios através do bloqueio dos canais de sódio dos axónios (Vasconcelos, 1999; Andrade, 2007; Duy *et al.*, 2000; Codd *et al.*, 1999).

A toxina cuja toxina foi mais recentemente caracterizada sob o ponto de vista químico é *Cylindrospermopsis raciborskii* filamentosa; derivando daí o nome da nova cianotoxina: *Cylindrospermopsis* (Svercek & Smith, 2004). Embora sendo predominante hepatotóxica na sua forma pura, a cylindrospermopsina também induz sintomas patológicos nos rins, baço, intestino, timo, coração e olhos (Sivonen & Jones, 1999), sendo a sua acção semelhante ao das citotoxinas porque resulta na inibição da síntese proteica (Codd *et al.*, 1999). São também crescentes as evidências dos efeitos genotóxicos (Humpage *et al.*, 2000) e neurotóxicos deste alcalóide (Kiss *et al.*, 2002).

As cianobactérias bênticas marinhas dos géneros *Lyngbya*, *Schizothrix* e *Oscillatoria* podem provocar dermatites severas por contacto (Sivonen & Jones, 1999). As dermatotoxinas não apresentam uma elevada toxicidade e os sintomas desaparecem após ter cessado o contacto (Andrade, 2007; Svercek & Smith, 2004).

A forma de intoxicação mais frequente por cianobactérias é a hepática aguda envolvendo hepatotoxinas. Estes péptidos cíclicos dividem-se estruturalmente em dois grupos: microcistinas e nodularinas (Sivonnen & Jones, 1999). Têm estrutura semelhante e peso molecular que varia entre 800 e 1100, embora sejam compostos relativamente pequenos quando comparados com as proteínas das células (Peso Molecular > 10 000) (Svercek & Smith, 2004).

Estas toxinas são responsáveis pela destruição da estrutura interna do fígado devido à acção que exercem sobre os hepatócitos atrofiando-os, impedido o contacto entre eles e provocando hemorragias que fazem aumentar o peso do fígado (Codd *et al.*, 1999; Vasconcelos, 1999). O atrofiamento do citoesqueleto dos hepatócitos dá-se devido à acção inibitória que estas cianotoxinas exercem nas fosfatases proteicas (enzimas reguladoras da síntese proteica), em particular do tipo 1 e 2A, essenciais à manutenção destas células (Andrade, 2007; WHO, 2008).

Os sintomas de intoxicação hepatotóxica incluem fraqueza, anorexia, palidez, arrefecimento das extremidades, dificuldades respiratórias, vómitos e diarreia (Carmichael, 1992b; Codd *et al.*, 1999). A morte ocorre num intervalo de tempo entre poucas horas e alguns dias após a exposição inicial e pode ser precedida por coma, tremores musculares e dificuldades respiratórias (Svercek & Smith, 2004).

Para além dos efeitos agudos, existem evidências que sugerem que a inibição das fosfatases proteicas, decorrentes de uma exposição crónica a várias hepatotoxinas, pode resultar numa proliferação celular descontrolada, potenciando o desenvolvimento de tumores (Svercek & Smith, 2004; Andrade 2007). Além disso, alguns estudos demonstraram que a microcistina-LR possui capacidade genotóxica, actuando não só como promotora mas

também como agente iniciador de tumores (Svercek & Smith, 2004; Andrade, 2007; WHO, 2003).

2.3.1. Microcistinas

As cianotoxinas mais ubíquas são as microcistinas, um grupo constituído por mais de 90 heptapépticos monocíclicos (uma cadeia cíclica com sete aminoácidos) que contém cinco aminoácidos invariáveis, tidos como comuns a todas as variantes, e dois aminoácidos proteicos variáveis (Antoniou, 2009; Svercek & Smith, 2004; Westrick *et al.*, 2010; Pearson *et al.*, 2010). A denominação destas toxinas deve-se ao facto de terem sido isoladas pela primeira vez a partir da espécie *Microcystis aeruginosa* (Codd, 2000).

A estrutura geral das microcistinas: ciclo (D-Ala¹-X²-D-MeAsp³-Z⁴-ADDA⁵-D-Glu⁶-Mdha⁷) dos quais X e Z nas posições 2 e 4 são variações nos L-aminoácidos. O D-MeAsp na posição 3 é o ácido D-eritro-β-metilaspártico e o Mdha é o N-metildehidroalanina, na posição 7. O aminoácido específico é o ADDA, em abreviatura, ou ácido (2S,3S,8S,9S)-3-amino-9-methoxi-2,6,8-trimetil-10-fenildeca-4,6-dienóico (Svercek & Smith, 2004; Sivonen & Jones, 1999; Codd *et al.*, 1999). A diferença na denominação das microcistinas deve-se às variações estruturais nos L-aminoácidos; o X é geralmente composto por leucina (L), arginina (R) ou tirosina (Y) e o Z é geralmente constituído por arginina, alanina (A) ou meteonina (M). Por exemplo, a microcistina-LR contém leucina e arginina, enquanto que a microcistina-YA contém tirosina e alanina (Carmichael, 1992b). Outras variações incluem diferentes graus de metilação do Mdha e/ou do MeAsp e alterações ao nível da estrutura da cadeia ADDA. Por exemplo, a demetilação do aminoácido MeAsp escreve-se da seguinte forma: [D-Asp³] microcistina-LR (Svercek & Smith, 2004). Existem inúmeros isómeros ópticos das microcistinas, sendo que novas variantes estão sempre a ser acrescentadas à lista.

A microcistina-LR (Figura 2.1) é a que ocorre com mais frequência, sendo igualmente uma das variantes mais tóxicas e, como tal, é a que se encontra mais bem caracterizada (WHO, 2008; Antoniou, 2010).

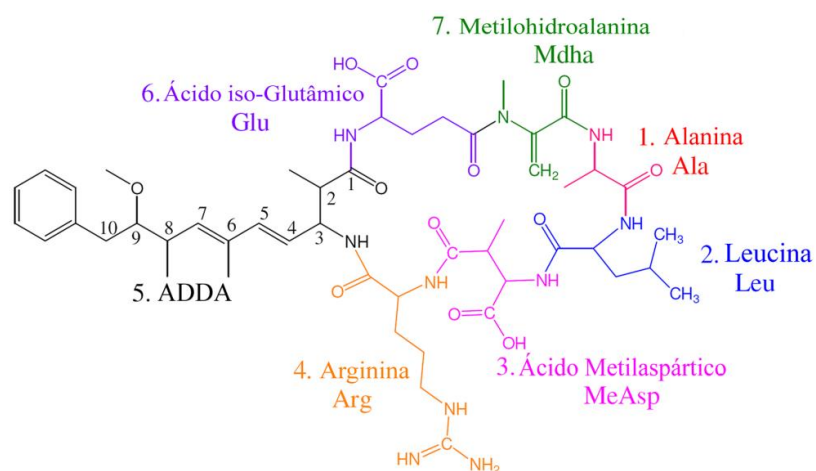


Figura 2.1 – Estrutura química da microcistina-LR (adaptado de Antoniou, 2010)

A toxicidade dentro da família das microcistinas apresenta uma variação acentuada (Quadro 2.2). As variantes mais tóxicas são as que apresentam os L-aminoácidos mais hidrofóbicos, por exemplo, -LA, -LR, e -YR e as menos tóxicas são as que contêm os aminoácidos mais hidrofílicos, por exemplo, -RR. Além disso, a toxicidade também depende do grau de metilação dos aminoácidos MeAsp e Mdha e dos estereoisômeros da cadeia ADDA, que tem um papel crucial pois a sua remoção ou saturação torna-as menos tóxicas (Svercek & Smith, 2004; Falconer, 2005).

Quadro 2.2 – Toxicidade de várias cianotoxinas (adaptado de Svercek & Smith, 2004)

Nome	LD ₅₀ ¹ (µg/kg peso corporal, ratinhos expostos intraperitonealmente)
Hepatotoxinas	
Microcistinas	
Microcistina-LR	50
Microcistina-LA	50
Microcistina- YR	70
Microcistina-RR	600
[D-Asp ³] microcistina-LR	50 a 300
[D-Asp ³] microcistina-RR	250
Nodularinas	50
Cylindrospermopsina	2000
Neurotoxinas	
Anatoxina-a e homoanatoxina-a	200 a 250
Anatoxina-a(S)	20
Saxitoxina (PSP)	10

¹ Dose Letal (LD₅₀) para 50% da população

As microcistinas são compostos relativamente estáveis em gamas alargadas de pH e temperatura, possivelmente devido à sua estrutura cíclica (Lawton & Robertson, 1999; Feng *et al.*, 2005). Suportam temperaturas muito altas (de ebulição) e sobrevivem durante muitos anos se estiverem armazenadas em locais secos à temperatura ambiente (Lawton & Robertson, 1999). As toxinas resistem à hidrólise enzimática efectuada por algumas enzimas comuns como, por exemplo, a pepsina, a tripsina e a quimotripsina (Cousins *et al.*, 1996; Harada & Tsuji, 1998). Devido ao seu peso molecular alto e à elevada solubilidade na água são pouco voláteis e incapazes de penetrar facilmente em membranas biológicas e sofrerem bioconcentração (Health Canada, 2002). Contudo, a MC-LR torna-se mais hidrofóbica em águas com pH baixo (De Maagd *et al.*, 1999).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estabeleceu um valor paramétrico de 1,0 µg/L de MC-LR em águas de consumo humano e de 10 µg/L em águas recreativas (WHO, 1998). Estes valores não contemplam os efeitos cancerígenos desta toxina, considerando os seus efeitos agudos (Andrade, 2007). Em termos nacionais, o Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto fixou o mesmo valor paramétrico, 1 µg/L microcistina-LR total equivalente, para águas de consumo humano.

As potenciais consequências para a saúde pública da exposição às cianotoxinas são tão graves que a Agência Americana de Protecção do Ambiente recomenda a redução dos valores guia de várias cianotoxinas, incluindo a MC-LR, de 1,0 para 0,1 µg/L (USEPA, 2007). O National Health and Medical Research Council (NHMRC) e o Agriculture and Resource Management Council of Australia and New Zealand (ARMCANZ) sugeriram que, em situações em que a *M. aeruginosa* ocorra em águas captadas para abastecimento público e em que não haja informação disponível sobre a monitorização das toxinas, o número de células de cianobactérias deve ser utilizado como forma de alerta preliminar de perigo para a saúde pública (medidor de perigo!). Por exemplo, para uma população altamente tóxica de *M. aeruginosa* (valor total de células tóxicas de 0,2 pg de microcistinas totais/célula), uma densidade celular de aproximadamente 6500 células/mL seria equivalente ao valor guia da Austrália de 1,3 µg/L de MC-LR equivalente, se a toxina fosse totalmente libertada na água. Este número é apenas uma estimativa, sendo necessária a quantificação de microcistina-LR total equivalente para avaliar o risco para a saúde pública (NHRC & ARMCANZ, 2004).

3. Opções de Gestão e Tratamento de Águas para Consumo Humano

O controlo de cianobactérias e consequentemente de cianotoxinas pode ser realizado em diversas etapas do sistema de abastecimento de água para consumo humano desde a captação até à distribuição.

A longo prazo, a melhor forma de impedir o aparecimento de *blooms* de cianobactérias nas captações superficiais passa pela prevenção da eutrofização dos meios hídricos naturais. Em alternativa, a gestão das bacias hidrográficas pode passar pela modificação das condições físicas das massas de água de forma a favorecer o aparecimento de outros grupos fitoplanctónicos em vez das cianobactérias (Hrudey *et al.*, 1999). Este objectivo pode ser conseguido de várias maneiras, geralmente através da destratificação artificial com recurso a sistemas de arejamento por ar difuso ou através de arejadores mecânicos superficiais (Brookes *et al.*, 2002). A destruição dos vacúolos gasosos por meio da radiação ultra-sónica é outra técnica emergente para tratamento de blooms de cianobactérias (Nakano *et al.*, 2001 e Lee *et al.*, 2002).

As técnicas de curto-prazo envolvem o posicionamento das tomadas de água, a captação a diferentes cotas seleccionando a água que apresente melhor qualidade (FNSACA, 2003; Coelho, 2009; Westrick *et al.*, 2010), sistemas de filtração em margens (*bank filtration*) (Falconer, 2005; Sens, 2006) e o recurso a barreiras múltiplas para restringir os movimentos das escumas (Hrudey *et al.*, 1999; FNSACA, 2003; Falconer, 2005). Estes métodos podem ser usados para diminuir a quantidade de cianobactérias na água bruta, reduzindo consequentemente a quantidade de toxinas intracelulares na água que afluí a uma estação de tratamento de água (ETA).

O tratamento químico com algicidas, como por exemplo o sulfato de cobre, foi considerada a medida preferencial para controlar as cianobactérias nas massas de água durante muitos anos (FNSACA, 2003; Freitas, 2008), mas começaram a surgir sérias objecções à sua aplicação devido ao aumento de toxicidade ambiental (Svercek & Smith, 2004). Os algicidas só devem ser utilizados nas fases iniciais do desenvolvimento do *bloom*, quando o número de células é baixo, de forma a minimizar a quantidade de toxinas intracelulares libertadas (FNSACA, 2003; Freitas, 2008; Antoniou, 2010), uma vez que se provou que as toxinas permanecem nos meios hídricos durante semanas ou mesmo meses (Jones *et al.*, 1994, 1995; Jones & Orr, 1994; Lahti *et al.*, 1997). Além disso, a sua aplicação provoca o aparecimento de espécies cada vez mais resistentes ao tratamento (Freitas, 2008).

A última etapa relativa ao controlo de cianobactérias e respectivas toxinas realiza-se nas ETAs. Dependendo de ter ocorrido a lise celular a montante (nos meios hídricos), as toxinas

podem fluir a uma ETA sob a forma intra - ou extracelular. Após a afluência da água contendo toxinas à ETA é possível recorrer a diferentes métodos de remoção que envolvem a combinação de processos (químicos e/ou biológicos) e operações unitárias (físicos).

As toxinas intracelulares podem ser retiradas pela remoção das próprias células, devendo ser identificada a melhor estratégia operacional a aplicar para a remoção destas toxinas: se esta se vai basear na remoção das toxinas intracelulares ou se vai ser provocada a lise das células para posteriormente se eliminarem as toxinas extracelulares (Hart *et al.*, 1998; Campinas *et al.*, 2002).

Os processos unitários podem transformar as toxinas, reduzindo assim o problema de qualidade da água, garantindo a aparente destruição das toxinas. Contudo, deve-se ter a certeza que a transformação não origina subprodutos intermédios ou finais tóxicos (Svercek & Smith, 2004).

Segundo Falconer (2005) a prioridade é a remoção de células vivas nas linhas de tratamento, tendo em conta que a maioria das microcistinas, nodularinas e uma percentagem substancial de cylindrospermopsinas estão contidas no interior das células.

3.1. Tratamentos Convencionais

3.1.1. Coagulação-Floculação

A coagulação é um processo que tem por objectivo destabilizar as partículas em suspensão, facilitando a sua aglomeração. Na prática, consegue-se por mistura rápida e dispersão de produtos químicos (Alves, 2007). A floculação é uma operação que tem por objectivo promover o contacto, através de uma mistura lenta, das partículas destabilizadas e favorecer a sua agregação em flocos facilmente sedimentáveis (Alves, 2007).

Os químicos usados na coagulação incluem vários sais metálicos de alumínio e de ferro, bem como alguns polielectrólitos. As doses desses químicos são determinadas de forma rotineira por meio de ensaios “jar test”; no entanto, Muchet & Bonnélye (1998) sugeriram a utilização do potencial Zeta (medição da mobilidade electroforética das células) como critério para a optimização da dosagem de coagulante em vez da minimização da turvação, uma vez que as cianobactérias são as últimas células de fitoplâncton a serem removidas quando se utilizam doses inadequadas de coagulante. A dose de coagulante também deve ser determinada em função do número de células de algas e da alcalinidade da água (Falconer, 2005). Os mecanismos de coagulação variam conforme o tipo de algas: se forem esféricas ocorre através da adsorção e neutralização de carga enquanto que se forem

filamentosas ou grandes dá-se pelo aprisionamento das partículas num precipitado (Bernhardt & Clasen, 1991; 1994).

Alguns estudos avaliaram a coagulação como forma de remoção das toxinas dissolvidas. Rositano & Nicholson (1994) usaram três coagulantes diferentes (sulfato férrico, sulfato de alumínio e policloreto básico de alumínio) para remover microcistinas dissolvidas, mas sem sucesso. Outras investigações obtiveram níveis baixos de remoção de microcistinas (entre 0 e 39%), quando 60 mg/L sulfato de alumínio foi utilizado numa pequena ETA (Lambert *et al.*, 1996). Outros tinham como objectivo a remoção das toxinas intracelulares através da eliminação das células das cianobactérias (Chow *et al.*, 1998). Estes estudos concluíram que a coagulação por meio de sulfato de alumínio e de sulfato férrico e a floculação eram eficazes na remoção de 99,9% (3-log) de células de cianobactérias sem danificar significativamente a integridade das membranas, ainda que a espécie *Anabaena circinalis* fosse mais susceptível a sofrer danos do que a espécie *Microcystis aeruginosa*. Embora o tratamento químico e a agitação mecânica não tenham danificado as células nem tenham contribuído para a libertação adicional de toxinas intracelulares, o sulfato férrico pareceu estimular o crescimento de dois tipos de cianobactérias tóxicas, sugerindo desta forma que o ferro actuaria como nutriente limitante na água testada (Chow *et al.*, 1998). Mais uma vez, nenhum destes coagulantes demonstrou ser promissor na remoção de toxinas dissolvidas.

3.1.2. Decantação

A selecção do decantador pode produzir efeito nos níveis de remoção de células. Segundo Mouchet & Bonnélye (1998) os decantadores de manto de lamas são substancialmente mais eficientes do que os decantadores convencionais (decantadores estáticos) porque permitem tempos de floculação mais longos. Embora este trabalho experimental se tenha baseado em dados de climas quentes, obteve-se uma remoção 90% de toxinas de cianobactérias. Descobriu-se que, a lise das cianobactérias e a libertação de cianotoxinas ocorre na lama (da decantação), após o número total de células ter sido reduzido para metade do valor inicial em apenas 2 dias, sendo acompanhado pela imediata libertação de toxinas das células senescentes (Drikas *et al.*, 2001a; 2001b). Este facto demonstrou que a gestão de lamas é importante na sedimentação em larga escala, tal como a recirculação de sobrenadantes das lamas desidratadas a montante da linha de tratamento.

Por vezes utiliza-se a flotação como etapa de decantação após a coagulação-floculação, se a água apresentar baixa turvação e alto índice de cor, o que provoca a formação de flocos menos densos, que flutuam melhor do que sedimentam (Letterman, 1999). A separação efectua-se pela acção de microbolhas geradas na fase líquida. As bolhas de gás associam-se

à matéria em suspensão e a força exercida é suficiente para fazer com que as partículas sejam transportadas até a superfície do líquido (Metcalf & Eddy, 2003). Esta operação denomina-se flotação por ar dissolvido (FAD) e é geralmente mais eficiente no tratamento de águas ricas em algas do que a sedimentação convencional (Letterman, 1999).

Hrudey *et al.* (1999) citaram diversos estudos em que com o tratamento por FAD se obtiveram níveis de remoção de, aproximadamente, 80% para *Microcystis spp.*, de 100% para *Anabaena spp.*, mas de apenas 30% para *Oscillatoria*. Hrudey e colaboradores (1999) também afirmaram que o FAD pode remover mais células intactas, uma vez que a lama é removida mais frequentemente do que a que sedimenta em tanques de fluxo horizontal, onde as algas podem senescer e entrar em lise. É necessário efectuar mais pesquisas para avaliar o impacto da frequência de remoção de lamas nos níveis de toxinas durante a fase de decantação.

3.1.3. Filtração (rápida, lenta e em margens)

A filtração é uma operação unitária que tem como objectivo a remoção de partículas em suspensão por passagem da água que as contém por um meio poroso (Alves, 2007). A filtração rápida utiliza uma variedade de meios granulares e pode incluir a filtração directa (sem decantação) ou filtração convencional (com decantação prévia).

Mouchet & Bonnélye (1998) referiram que a filtração directa não é geralmente satisfatória na remoção de células de cianobactérias, a menos que sejam aplicados filtros multicamada (diversos meios de enchimento filtrantes) e pré-tratamento químico adequado. Lambert *et al.* (1996) concluíram que a remoção de microcistinas (14 a 60%) por meio de um filtro de dupla camada – areia e antracite – etapa seguida da coagulação-floculação com sulfato de alumínio era inconsistente.

Teoricamente a filtração por areia não deve conseguir remover as toxinas dissolvidas. Hoeger *et al.* (2001) encontraram células de cianobactérias intactas após a fase de filtração, o que significa que as toxinas intracelulares representavam a maior parte do total de microcistinas na água. Como tal, uma questão operacional a considerar é o efeito que uma filtração extensa pode produzir nas células de cianobactérias contida na água afluyente; a senescência e a lise das células aprisionadas no meio filtrante podem provocar a libertação de toxinas para água filtrada.

A promoção de um escoamento lento através de uma camada de areia fina permite que as partículas de maiores dimensões fiquem retidas à superfície do filtro. As impurezas formam uma película com uma superfície total de poros muito elevada, constituída por bactérias, algas e protozoários. A esta camada superficial chama-se *schumtzdecke* ou biofilme, a qual

permite a combinação de efeitos dos processos físicos e biológicos (Alves, 2007, Svercek & Smith, 2004). Este biofilme permite alguma degradação de substâncias dissolvidas (Hendricks, 1991).

A biodegradação de microcistinas está bem descrita (Jones *et al.*, 1994; Jones & Orr, 1994; Rapala *et al.*, 1994; Lam *et al.*, 1995b; Cousins *et al.*, 1996; Park *et al.*, 2001; Christofeersen *et al.*, 2002), com etapas enzimáticas específicas e bem caracterizadas (Bourne *et al.*, 1996), pelo que é razoável esperar alguma biodegradação na filtração lenta. Grützmacher *et al.* (2002) descobriram que mais de 90% de microcistinas dissolvidas foram eliminadas pela filtração lenta, a temperaturas moderadas, essencialmente devido à biodegradação na parte superior ou interior do filtro. O contacto prévio do biofilme com as microcistinas parece reduzir o tempo de contacto necessário para degradar as toxinas e os níveis de remoção decrescem com a diminuição da temperatura, provavelmente devido ao atraso da biodegradação. Outros autores descobriram taxas variáveis de remoção de microcistinas e anatoxina-a (Keijola *et al.*, 1988).

Segundo Mouchet & Bonnélye (1998), os filtros lentos podem remover 99% de células de fitoplancónicas, embora a obstrução do filtro seja um problema potencial (Hendricks, 1991). A acumulação de células de cianobactérias nos filtros pode provocar a sua lise e a libertação de maiores quantidades de toxinas para a água.

A filtração em margens ou *bank filtration* é um processo de pré-tratamento alternativo à filtração directa ou aos processos convencionais de tratamento de água. Nesta técnica as massas de água superficiais são inicialmente filtradas através dos sedimentos naturais adjacentes (margens) de modo a alcançar-se um determinado nível de qualidade da água para consumo.

Ensaio realizados à escala laboratorial têm demonstrado que tanto a adsorção como a degradação de microcistinas podem ocorrer em sedimentos de lagos e em solos (Falconer, 2005). Lahti *et al.* (1996) obtiveram uma remoção de toxinas dissolvidas superior a 90% após filtrarem durante uma semana, em colunas de sedimentos oriundas de um lago, água proveniente do mesmo lago à qual foram adicionadas microcistinas e culturas de *Microcystis*. Miller & Fallowfield (2001) sugeriram que a biodegradação de hepatotoxinas foi a etapa limitante do processo, uma vez que adsorção das toxinas foi muito superior à sua biodegradação nos filtros utilizados. Este facto deveu-se, provavelmente, à dificuldade em otimizar as condições de filtração nas margens, para além da selecção do local adequado. Para que haja uma eficiente remoção das toxinas, a longo prazo, tem de ocorrer simultaneamente a sua adsorção e degradação (Falconer, 2005).

3.1.4. Adsorção por Carvão Activado

A utilização do carvão activado no tratamento de água tinha inicialmente como objectivo a remoção de problemas de sabor e odor, que também podiam ser causados por cianobactérias (Letterman, 1999). Existem dois tipos principais de carvão activado que se utilizam no tratamento da água (ETAs) para a remoção de substâncias oxidáveis (Mano, 2005). Para uso descontínuo recorre-se geralmente ao carvão activado em pó (CAP) consoante as necessidades, enquanto que o carvão activado granulado (CAG) é normalmente utilizado em leitos filtrantes (Alves, 2007; Mano, 2005).

Os carvões activados são invariavelmente microporosos na natureza - dimensão do poro inferior a 2nm (Svrcek & Smith, 2004; Alves, 2007). A presença adicional de mesoporos (dimensão entre 2 e 50 nm) é menos comum, sendo o nível de mesoporosidade influenciado pela matéria-prima e pela forma de activação do carvão (Letterman, 1999; Alves, 2007).

Tem sido prestada mais atenção ao CAG que ao CAP, uma vez que o primeiro é utilizado em colunas ou leitos que permitem uma maior capacidade de adsorção e um controlo do processo mais simples. O custo mais elevado do CAG é compensado por uma melhor eficiência, especialmente na remoção contínua de matéria orgânica. O início e o desenvolvimento da actividade biológica no CAG podem ser vantajosos na decomposição adicional de moléculas orgânicas (Alves, 2007; Svrcek & Smith, 2004).

Num dos primeiros estudos relativos ao tratamento de água contendo cianotoxinas, Hoffman (1976) usou o carvão activado com grande resultado para remoção de dois péptidos desconhecidos de toxinas de um *bloom* de *M. aeruginosa*. As duas fracções de microcistinas perderam o seu potencial tóxico após ter sido efectuado o tratamento de água com doses de 80 mg/L e 800 mg/L de CAP – as quais são muito superiores às geralmente utilizadas em ETAs (5 a 50mg/L). A dose necessária parecia depender da fracção de microcistina testada, no entanto não é possível obter nenhum esclarecimento complementar relativamente aos factores que influenciaram este mecanismo, uma vez que, à época do ensaio, as toxinas ainda não estavam caracterizadas. Como apenas era necessário um décimo da dose para eliminar umas das fracções de microcistina em estudo, Lawton & Robertson (1999) após analisarem os resultados obtidos no trabalho experimental de Hoffman, sugeriram que as microcistinas desconhecidas deviam ser de diferentes variantes apresentando portanto comportamentos de adsorção/absorção muito divergentes, possivelmente devido às suas diferentes polaridades – as moléculas com polaridade baixa são melhor adsorvidas no carvão activado (Alves, 2007). A perda de toxicidade foi comprovada, por Hoffman, em estudos *in vivo* com ratinhos.

Uma série de estudos efectuados nos últimos 15 anos investigaram a adequação de uma gama de carvões e respectivas doses. Alguns estudos efectuados nos finais dos anos 80 e início dos anos 90 concentraram-se nas doses necessárias de CAP para remover cianobactérias tóxicas em processos convencionais de tratamento de águas. Keijola *et al.* (1988) e Himberg *et al.* (1989) utilizaram uma mistura de hepatotoxinas de *Microcystis spp.* para simular as condições de um *bloom* e uma espécie de cianobactéria do género *Anabaena* para fornecer o neurotóxico anatoxina-a. A adição de 5mg/L de CAP no processo de coagulação, em ensaios à escala laboratorial, promoveu a remoção de mais de 34% das toxinas de *Microcystis spp.* e mais de 50% da neurotoxina. À escala piloto, a dosagem de CAP de 20mg/L, após tratamento convencional com pré-ozonização, resultou em reduções superiores a 90% de toxinas provenientes de um *bloom* de *M. aeruginosa*. Outros estudos concluíram que doses superiores a 20mg/L de CAP são muitas vezes necessárias para se alcançar uma remoção quase completa de microcistinas (Bruchet *et al.*, 1998; Hart *et al.*, 1998).

As análises realizadas a diversos tipos de carvão activado concluíram que o mais eficiente na remoção de microcistinas é aquele cuja matéria-prima deriva de madeira (Falconer, 2005). Fawell *et al.* (1993) usaram pela primeira vez CAP com origem em carvão, madeira e casca de coco, em doses que variavam entre 0 e 110 mg/L, em ensaios “jar test” com cloreto férrico. O CAP com origem em madeira demonstrou ter uma capacidade claramente superior de remoção de toxinas, sendo que 20 mg/L de CAP removiam 85% de toxina de uma água que continha microcistina-LR, enquanto que os restantes tipos de carvão testados apenas eliminaram 40%.

Donati *et al.* (1994) também avaliaram a capacidade de remoção de toxinas por diferentes tipos de CAP, partindo de uma concentração inicial de microcistina-LR de 50µg/L. Concluíram que era necessário um tempo de contacto de 30 min com uma dose de 25mg/L de CAP para se atingir uma remoção de 98%, enquanto que com uma dose de 50mg/L de CAP de casca de coco (o adsorvente mais pobre) se atingia uma remoção de apenas 60%. Estes autores concluíram que é o volume de mesoporos (diâmetro entre 2 a 50 nm) do carvão activado que condiciona a eficiência de adsorção, uma vez que o diâmetro estimado das microcistinas varia entre 1,2 e 2,6 nm. Não foi encontrada nenhuma correlação entre o volume de microporos (com diâmetro inferior a 2nm) e a adsorção, o que sugere que as moléculas das toxinas têm uma dimensão demasiado grande para poderem serem retidas nestes poros, impedindo desta forma a adsorção. Os carvões de origem em madeira contêm inúmeros mesoporos pelo que evidenciaram maiores eficiências de remoção, ao contrário dos de casca de coco que apresentaram baixo teor de mesoporos e reduzida eficiência.

Estudos posteriores comprovaram a eficiência do CAP com origem em madeira na adsorção de microcistina-LR (Warhurst *et al.*, 1997). A aplicação do modelo de difusão de transferência de massas permitiu prever as doses de CAP a utilizar na remoção das microcistina-LR e -LA, possibilitando assim a selecção das doses sazonais correctas de CAP perante a ocorrência de *blooms* de cianobactérias tóxicas (Cook & Newcombe, 2002). A eficiência de adsorção de quatro variantes de microcistinas é diferente, apresentando a seguinte ordem de facilidade de remoção: RR>YR>LR>LA (Cook & Newcombe, 2002).

A presença de matéria orgânica (m.o.) reduz a capacidade de adsorção do carvão activado, uma vez que esta compete com as microcistinas pelos mesmos sítios activos, reduzindo não só a taxa inicial como o nível máximo de adsorção destas toxinas (Donati *et al.*, 1994; Bruchet *et al.*, 1998; Falconer, 2005). Mais uma vez, o CAP derivado de madeira demonstrou melhor desempenho para acomodar não só microcistina-LR como também m.o. com dimensões semelhantes, tendo registado uma menor redução da adsorção da microcistina (Svrcek & Smith, 2004). Problemas com quantidades elevadas de m.o. são particularmente importantes na remoção de cianotoxinas, porque a senescência de um *bloom* estará associada a uma elevada quantidade de carbono na água proveniente dos componentes biológicos das células de cianobactérias (Lawton & Robertson, 1999).

O CAG também mostrou um bom desempenho na remoção de cianotoxinas. Os testes com CAG, efectuados à escala piloto, por Bruchet e colaboradores (1998) evidenciaram uma remoção superior a 90% de microcistinas (concentrações iniciais > 50 µg/L) em 7000m³ de água tratada num filtro CAG e 12000m³ noutro filtro. A partir destes volumes, as eficiências do CAG diminuíram entre 49% e 63% devido, provavelmente, à saturação do carvão por carbono orgânico dissolvido (COD).

Hart *et al.* (1998) efectuaram testes dinâmicos em coluna para simular o comportamento do CAG sob condições variáveis. Os resultados demonstraram que os tempos de *breakthrough* previstos para quatro tipos de carvão seriam bastante curtos se utilizados continuamente com águas contendo microcistinas entre 5 e 20 µg/L. Lambert *et al.* (1996) realizaram ensaios com coluna de CAG em ETAs durante 5 meses para avaliar a adsorção de microcistinas constatando que a m.o. competia com a microcistina-LR pelos mesmos sítios activos, reduzindo a capacidade do CAG em adsorver a toxina.

Embora Lambert *et al.* (1996) não tenham observado, num período de um mês, biodegradação de microcistinas por um biofilme existente num leito de CAG, outros foram capazes de atribuir alguma capacidade de remoção de microcistinas à actividade biológica (Bruchet *et al.*, 1998; Hart *et al.*, 1998). Hart *et al.* (1998) recorreram a testes à escala piloto para demonstrar que uma camada de CAG biologicamente activa consegue degradar completamente as toxinas, quer através da adsorção, quer através do processo de

biodegradação, desde que o tempo de contacto seja suficientemente longo para permitir a actividade biológica (superior a 15 min).

Num outro estudo cujo o objectivo era a determinação da biofiltração das microcistinas -LR e -LA, Newcombe *et al.* (2002) utilizaram uma coluna de CAG, à escala laboratorial, com um período de actividade de 6 meses. O CAG “usado” demonstrou uma capacidade de remoção relativamente baixa no início do estudo mas, após algumas semanas, a concentração de microcistinas no efluente (à saída do leito) era inferior ao limite de detecção, sugerindo que o biofilme se tinha adaptado às microcistinas e estava a degradá-las.

Os estudos anteriormente referidos demonstraram que a adsorção por carvão activado pode ser aplicada com sucesso à redução parcial de elevados níveis de cianotoxinas. No entanto, é de notar que esta remoção é apenas física – e que as toxinas permanecem adsorvidas no carvão activado até à sua degradação por via biológica ou química.

3.1.5. Oxidação por Permanganato de Potássio

O permanganato de potássio foi utilizado pela primeira vez como forma de tratamento químico da água na cidade de Londres em 1913 (Galvin & Mellado, 1998) e tem vindo a ser aplicado em larga escala nos Estado Unidos da América e na Europa desde os anos 60 (Letterman, 1999). É um agente oxidante forte capaz de destruir compostos orgânicos e microrganismos, e pode ser adicionado na fase de pré-oxidação ou durante o processo de tratamento (Svrcek & Smith, 2004).

Fawell *et al.* (1993) descobriram que o permanganato de potássio era um oxidante eficaz na redução de concentrações de microcistinas, quando aplicado tanto em água bruta como em água tratada. Estudos posteriores realizados por Rositano *et al.* (1998) concluíram que com 2mg/L de permanganato de potássio se obtinha uma remoção de 1mg/L de microcistina-LR, após um tempo de contacto 10 min. Uma pesquisa mais recente realizada em várias ETAs no Winconsin, EUA, demonstrou que a adição de permanganato de potássio como forma de pré-tratamento químico reduzia as microcistinas em cerca de 61% (Karner *et al.*, 2001). Dois outros estudos concluíram que o permanganato induz a lise das células e aumenta os níveis de cianotoxinas em solução (Lam *et al.*, 1995; Schmidt *et al.*, 2002). Não se observou redução das toxinas por oxidação (Schmidt *et al.*, 2002). Apesar de, aparentemente ser promissor o uso do permanganato de potássio para a destruição de microcistinas, devem ser cuidadosamente estudadas estratégias de doseamento e tempos de contacto, além de investigada a possibilidade de formação de sub-produtos perigosos (Svrcek & Smith, 2004; Campinas *et al.*, 2002; FNSASA, 2003).

3.1.6. Cloração

O cloro é o agente químico mais frequentemente utilizado para a redução de microrganismos (Svrcek & Smith, 2004). Os estudos iniciais sobre a aplicação de cloro para a remoção de microcistinas foram realizados por Hoffman (1976) e posteriormente por Keijola *et al.* (1988) e Himberg *et al.* (1989). Contudo, estes estudos demonstraram que a cloração não era eficaz na destruição de toxinas, mesmo com as doses substanciais (5 mg/L) utilizadas por Hoffman. Este facto talvez fosse devido à acção do pH, que influencia as concentrações de ácido hipocloroso (relativamente baixas, neste caso), ou ao consumo de cloro pela matéria orgânica, pelo que a quantidade era insuficiente para a oxidação das microcistinas.

Nicholson e colaboradores (1994) investigaram o efeito do pH na cloração dos péptidos cíclicos hepatotóxicos, tendo verificado uma dependência entre este e a eficiência de destruição. Os mesmos investigadores, em 1993, conseguiram obter a destruição de hepatotoxinas produzidas por *M. aeruginosa* e *Nodularia spumigena*, com um tempo de contacto de 30 min e uma concentração de cloro residual de 0,5 mg/L (Nicholson *et al.*, 1993) com um pH inferior a 8 (Svrcek & Smith, 2004). Ocorreu uma redução da destruição de toxinas para valores de pH superiores a 8, que se atribuiu ao decréscimo das concentrações de ácido hipocloroso. Por exemplo, a eficiência de destruição de toxinas alterou-se de 79% com um pH de 7 para 0,4% com um pH de 10 (Svrcek & Smith, 2004). Rositano *et al.* (1998) mostraram que mais de 70% de microcistina-LR a uma concentração de 1mg/L podia ser removida com 2mg/L de cloro, ao fim de 10 min.

Tsuji *et al.* (1997) provaram que a microcistina-LR podia ser facilmente decomposta pela cloração com hipoclorito de sódio e que a decomposição dependia da dose de cloro livre (Cl_2). Estes autores demonstraram que uma dose de 2,8 mg/L de Cl_2 livre removia 99% de toxinas após 30 min; contudo, utilizaram concentrações de toxinas 100 vezes superiores ao nível possivelmente presente durante um *bloom* e recorreram também à água destilada nos seus ensaios. O excesso de microcistina-LR associado à inexistência de outros constituintes físicos e químicos que exigissem a oxidação potencial por cloro, pode ter conduzido a resultados que induzem em erro, quer em termos de doseamento quer em termos de tempos de contacto necessários para a remoção de microcistinas.

Foram realizadas tentativas com outros compostos de cloro com pouco sucesso. A aplicação de cloraminas não se revelou eficaz na destruição de microcistinas e nodularinas, mesmo após um tratamento com 5 dias de duração e com uma solução de 20mg/L de cloramina. Este facto sugere que numa água com carência de cloro combinado o tratamento de remoção de hepatotoxinas pode ser mais difícil (Nicholson *et al.*, 1994). Fawel *et al.* (1993)

citam um estudo em que o dióxido de cloro foi ineficiente na destruição de microcistinas intracelulares quando doseado a 10mg/L, e eram necessárias doses de 6mg/L para se obter 80% de remoção. Contudo, doses elevadas deste agente de desinfecção têm custos proibitivos (Svrcek & Smith, 2004).

Apesar da cloração parecer ser eficiente na destruição de microcistinas, nodularinas, saxitoxinas e cylindrospermopsinas em diferentes intervalos de pH, ainda foram realizados poucos trabalhos acerca da caracterização dos subprodutos da cloração (Svrcek & Smith, 2004). Contudo, alguns estudos realizados em cobaias demonstraram que as microcistinas e as nodularinas perdem toxicidade com doses de cloro acima de 1,0 e 0,5 mg/L, respectivamente (Nicholson *et al.*, 1994). Além disso, as microcistinas perdem, não só o seu carácter de toxicidade como a sua capacidade mutagénica via inibição da fosfatase proteica (Tsuji *et al.*, 1997). Os bioensaios em cobaias também demonstraram a perda de toxicidade aguda de saxitoxinas após a cloração (Newcombe & Nicholson 2002; Nicholson *et al.*, 2003). A cloração também reduz a toxicidade aguda da cylindrospermopsina numa ou duas ordens de magnitude, no entanto os subprodutos resultantes demonstraram causar lesões hepáticas e genotoxicidade (Shaw *et al.*, 2001). Senogles-Derham e colaboradores (2003) realizaram uma série de testes de toxicidade a longo prazo, administrando a cobaias soluções cloradas contendo microcistinas, saxitoxinas e cylindrospermopsinas por via oral, por um período de tempo entre 90 e 170 dias. Embora não tenham verificado o aumento de tumores cancerígenos, foi detectada a vacuolização gorda em 40% dos animais do sexo masculino tratados com cylindrospermopsina clorada. Estes autores sugeriram que deveriam ser realizadas análises posteriores para se verificar os efeitos dos compostos não genotóxicos provenientes da cloração das cianotoxinas (Senogles-Derham *et al.*, 2003).

Deve ser evitada a pré-cloração da água que contenha células de cianobactérias devido à libertação de toxinas durante a lise celular (Falconer, 2005; Westrick *et al.*, 2010). A eficiência de filtração a jusante da cloração utilizada como forma de oxidar as cianotoxinas, vai depender da adequada optimização dos processos de tratamento a montante, cujo objectivo seja a remoção de compostos orgânicos que reagem com cloro e formam subprodutos da desinfecção (FNSASA, 2003). Estão em curso trabalhos com vista à criação de uma tabela de valores Ct (Concentração – tempos de contacto) para a inactivação da microcistina-LR (Harrington, 2002; Zeier *et al.*, 2003).

3.1.7. Sequências de Tratamentos Convencionais

As sequências dos tratamentos convencionais consistem na combinação de coagulação, floculação, decantação e filtração. Enquanto que a maioria dos estudos que envolvem a remoção de cianobactérias avaliam os processos/operações unitárias individualmente,

alguns trabalhos estudaram a eficiência de uma sequência de tratamento na redução de toxinas.

Hoffman (1976) realizou o primeiro trabalho escrito relacionado com a remoção de *Microcystis aeruginosa* da água, ainda antes da caracterização das diferentes toxinas em termos de estrutura molecular e dos seus efeitos na saúde. A capacidade de remoção através de processos e operações unitárias como a coagulação, floculação, sedimentação, filtração e desinfecção por cloro foi inferior aos “níveis activos” das toxinas.

Keijola *et al.* (1988) e Himberg *et al.* (1989) fundamentaram as conclusões acima referidas, demonstrando que a coagulação por sulfato de alumínio ou por cloreto férrico e a floculação combinada com filtração por areia e com cloração eram incapazes de uma remoção significativa de hepatotoxinas. As doses de sulfato de alumínio variavam entre 36 e 71 mg/L resultando numa remoção de microcistinas entre 11 e 32% enquanto que, a utilização de cloreto férrico, a 55mg/L obteve apenas uma remoção de 9 a 16%. Embora não sendo muito eficiente na remoção de toxinas, a presença destas não inibiam a redução típica de outros parâmetros de qualidade da água, como por exemplo a turvação. A inexistência de remoção de toxinas nestes ensaios deveu-se provavelmente ao facto das investigações incidirem sobre as toxinas provenientes da lise das células de cianobactérias, portanto extracelulares e dissolvidas. Ficou demonstrado que os processos de coagulação-floculação e as operações de filtração são incapazes de uma efectiva remoção de toxinas dissolvidas e que, a matéria orgânica existente na água deve ter provocado uma carência de cloro adicional tornando a cloração ineficiente (Svrcek & Smith, 2004; Campinas *et al.*, 2002). Estes estudos dão uma visão pouco realista das sequências dos tratamentos convencionais, visto que as estações de tratamento de água para abastecimento usam normalmente fontes de água que contém tanto células intactas como toxinas dissolvidas.

Embora nestes estudos prévios tenha ficado demonstrada a baixa capacidade de remoção de toxinas devido ao facto de se apresentarem na forma extracelular, outros trabalhos provaram que, em condições de normal funcionamento, estas sequências de tratamentos são capazes de remover cianotoxinas. Lambert e colaboradores (1996) verificaram que numa ETA em Alberta, que recorria à coagulação, floculação, decantação e filtração com leitos de dupla camada, se obtinha uma remoção de 50 a 60% de microcistinas. Estes níveis mais elevados de remoção deviam-se provavelmente à elevada percentagem de toxinas intracelulares e à capacidade da sequência de tratamento convencional para remover células intactas. Schmidt *et al.* (2002) também demonstraram a redução de microcistinas totais em diversas combinações de operações unitárias à escala piloto: coagulação-floculação-filtração (87 a 94 de remoção), permanganato-coagulação-floculação-filtração (31 a 59%), CAP-coagulação-floculação-filtração (92 a 99%), pré-ozonização-coagulação-

floculação-filtração (73 a 93%) e pré-ozonização-CAP-coagulação-floculação-filtração (95 a 97%). Tendo em conta que as percentagens apresentadas dizem respeito à remoção de microcistinas totais, há que considerar que diferentes combinações de tratamento resultam em diferentes níveis de indução de lise celular na linha de tratamento. No caso da coagulação-floculação-filtração os níveis de microcistinas extracelulares aumentaram em 0,4 µg/L no efluente do filtro, indicando danos nas células de cianobactérias. Um estudo efectuado por Karner e colaboradores (2001) aferiu, em cinco ETAs, a eficácia na remoção de microcistinas em diferentes fases do processo de tratamento, que incluíam combinações de pré-tratamento, CAP, coagulação-floculação, sedimentação, amaciamento, recarbonatação, filtração rápida por areia, fluoretação e desinfecção por cloro. Uma vez que não é feita a diferenciação entre toxinas intra- e extracelulares, a percentagem total de redução de concentrações de microcistinas (90 a 99,9%) observada pode dever-se ao elevado número de químicos usados e às barreiras físicas presentes em cada uma das diferentes ETAs estudadas.

Rapala *et al.* (2002) descobriram que as maiores reduções em concentrações de endotoxinas ocorrem nas fases iniciais de tratamento – 83 a 86% através da coagulação, sedimentação e filtração por areia – sugerindo que os processos de redução de material particulado também removem endotoxinas em grande medida. É necessário realizar mais pesquisa para se atingir a optimização do tratamento de remoção das endotoxinas, de forma a minimizar a lise celular durante o tratamento (Svrcek & Smith, 2004).

3.2. Tratamentos Avançados

O uso de métodos alternativos mais avançados para a remoção ou transformação de cianotoxinas tem vindo a ser investigados nos últimos 15 anos com diferentes graus de sucesso. Estas opções de tratamento incluem filtração por membranas, ozono, fotólise por radiação UV e processos de oxidação avançados.

3.2.1. Filtração por membranas

Os processos de separação baseiam-se na utilização de membranas semipermeáveis que dividem o afluente em duas fracções: um permeado, que contém qualquer material que passe através das membranas e um concentrado, que retém os materiais separados (Svrcek & Smith, 2004). O enorme potencial das membranas resulta da sua capacidade universal de tratamento e do custo competitivo (Letterman, 1999). Os processos de separação por membrana com aplicação imediata nos tratamentos de água para consumo são microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração e osmose inversa. As membranas de baixa pressão, que são a microfiltração (MF) e a ultrafiltração (UF), estão a tornar-se métodos de

tratamento correntes em ETAs de pequena e média dimensão em alternativa aos processos de filtração. As membranas de alta pressão, osmose inversa (OI) e nanofiltração (NF), são capazes de remover toxinas extracelulares dissolvidas devido ao seu baixo peso molecular de corte (o peso molecular de corte da OI é de aproximadamente 100 Da), o peso molecular médio da microcistina é de 996 Da. Embora, teoricamente, a MF e a UF sejam incapazes de remover as toxinas dissolvidas, podem ser adequadas à remoção das toxinas intracelulares através da separação física das células das cianobactérias da água (Falconer, 2005; Svrcek & Smith, 2004; Westrick *et al.*, 2010).

Neumann & Weckesser (1998) investigaram o desempenho de membranas OI na remoção das microcistinas -LR e -RR contidas em água potável e salgada (3000 ppm NaCl), obtendo níveis de retenção superiores a 95 e 99%, respectivamente para cada tipo de água. A concentração inicial de microcistinas -LR e -RR situava-se entre 70 e 130 µg/L.

Num estudo citado por Fawell *et al.* (1993), foi utilizada uma membrana de nanofiltração para remover microcistinas da água. Esta NF em particular tinha um peso molecular de corte nominal de 200 Da, e as experiências foram conduzidas com uma razão de permeado/concentrado de um para quatro. Os resultados indicaram que se obteve uma rejeição completa de microcistinas e que não houve acumulação de toxinas na superfície da membrana. Muntisov & Trimboli (1996) também recorreram, com êxito, à nanofiltração para remover 8 µg/L de microcistinas-LR e nodularinas provenientes de água fluvial com grande conteúdo em toxinas. Outros investigadores demonstraram que a aplicação final da NF após os tratamentos convencionais é capaz de remover 82 a 99% de microcistinas-LR de uma água superficial, e que sete de um total de oito membranas testadas removeram mais de 94% das toxinas (Simpson & MacLeod, 2002; Smith *et al.*, 2002).

Chow e colaboradores (1997) realizaram um estudo exaustivo cujo objectivo era a avaliar a capacidade de filtração “cross flow” e “dead end” de membranas MF e UF planas na remoção de células e de toxinas de água com um *bloom* de *Microcystis aeruginosa*. Estes investigadores concluíram que as membranas removeram mais de 98% de células porque o tamanho do poro de ambas apresentava uma ordem de magnitude inferior ao tamanho das células de *M. aeruginosa*. Também realizaram testes considerando o “pior cenário possível” – com membranas de alta pressão (aproximadamente 200 kPa) a assegurar um elevado “stress” sobre as células de cianobactérias. A análise à integridade das células mostrou a presença de algumas células danificadas na água de lavagem de ambos os tipos de membranas, contudo este facto não provocou nenhuma libertação adicional mensurável de microcistinas no permeado durante o tratamento. Durante a lavagem as células de *M. aeruginosa* mostraram ser mais difíceis de remover da membrana MF do que da UF; este facto é importante devido ao risco de senescência e lise das células aprisionadas que podem

libertar toxinas para a água filtrada, tal como sucede nos leitos de filtração com areia. O pré-tratamento de coagulação auxilia a uma menor colmatação das membranas MF e UF, removendo as células de cianobactérias durante a lavagem. Foi igualmente detectado que a membrana UF empregue apresentou alguma capacidade de rejeição ou de adsorção de microcistinas, uma vez que a quantidade de toxinas extracelulares era menor no permeado do que na alimentação. É necessário prosseguir a investigação acerca das propriedades de rejeição e da capacidade de adsorção das membranas (Svrcek & Smith, 2004; Westrick *et al.*, 2010).

Zhou e Smith (2001) propuseram os processos de membranas híbridas como forma de solucionar alguns problemas relacionados com contaminantes. Mouchet e Bonnelye (1998) sugeriram que o sistema combinado de CAP e UF (em que o CAP pode ser aplicado individualmente ou seguido de decantação convencional e/ou ozonização) é o mais promissor para a remoção simultânea das cianobactérias e das suas toxinas. Além disso, as membranas são um investimento viável visto que também possibilitam a eliminação de protozoários (Metcalf & Eddy, 2003).

Apesar da OI e da NF serem tecnologias aparentemente adequadas à remoção de cianotoxinas dissolvidas e da UF e da MF se ajustarem à remoção de células de cianobactérias (toxinas intracelulares), é necessário o desenvolvimento de estratégias de tratamento dos resíduos resultantes da filtração (Svrcek & Smith, 2004; Falconer, 2005).

3.2.2. Ozonização

O ozono é um gás instável com um elevado potencial de oxidação e é aplicado nas ETAs por dispersão em meio aquoso (Letterman, 1999). As reacções podem ser directas através da oxidação dos compostos dissolvidos com o ozono molecular, ou indirectas, através dos radicais livres OH^\bullet , originados pela decomposição do ozono (Svrcek & Smith, 2004; Westrick *et al.*, 2010). A oxidação pelos radicais hidroxilos é não selectiva, reagindo rapidamente com uma ampla gama de espécies. A ozonização da água de consumo é considerado um processo de tratamento avançado devido à complexidade inerente a esta operação.

O ozono parece ser o processo mais consistente e eficiente para se conseguir a completa destruição de microcistinas, nodularinas e anatoxina-a (Keijola *et al.*, 1988; Himberg *et al.*, 1999; Rositano & Nicholson 1994; Bruchet *et al.*, 1998; Hart *et al.*, 1998; Rositano *et al.*, 1998, 2001). Este agente oxidante apresenta elevada reactividade com as ligações insaturadas formando compostos carbonilo, pelo que as ligações duplas do grupo ADDA das microcistinas e da nodularina são sensíveis a este gás. Uma vez que a toxicidade das microcistinas e das nodularias está associada aos alcenos do grupo ADDA, a clivagem deste grupo torna a molécula não tóxica (Carmichael, 1992a, 1997).

Os primeiros resultados apresentados por Keijola *et al.* (1988) e Himberg *et al.* (1989) demonstraram que os processos de tratamento da água que incorporavam ozonização eram mais eficientes na eliminação da toxicidade proveniente dos extractos de cianobactérias. Estes investigadores registaram 100% de eficiência na remoção de mais de 60 µg/L de microcistinas com 1 mg/L de ozono em testes com reactores *batch*. Verificaram também que, à escala piloto, uma dose de ozono de 1 a 1,5 mg/L removeu a maioria das toxinas de *Microcystis sp.*, tendo sido determinada a concentração a partir de amostras retiradas no final da sequência de tratamentos. Segundo alguns investigadores a remoção da microcistina-LR depende da dose de ozono aplicada (Keijola *et al.*, 1988; Himberg *et al.*, 1989; Fawell *et al.*, 1993; Rositano *et al.*, 1998). Rositano e os seus colaboradores (1998) verificaram que perto de 100% de microcistinas e nodularinas presentes num água bruta foram removidas em 15s quando tratadas com 0,22 mg/L de ozono. A microcistina-LR pura numa concentração de 166 µg/L foi oxidada para valores inferiores ao limite de detecção por 0,2 mg/L de ozono, em menos de 4 min. A capacidade de destruição depende do pH da água, sendo as condições alcalinas menos favoráveis porque a capacidade de oxidação diminuí com valores elevados de pH (Svrcek & Smith, 2004). Outros autores confirmaram o seguinte facto: a 20°C, a constante de reacção entre o ozono e a microcistina-LR diminuiu de $1,0 \times 10^5$ para $3,4 \times 10^4 \frac{M/s}{M^2}$ à medida que o pH aumentava de 2 para 7 (Shawwa & Smith, 2001). O facto da microcistina-LR pura reagir mais rapidamente em condições ácidas com o ozono sugere que, provavelmente, as reacções directas com o ozono molecular se sobrepõem às indirectas com os radicais livres. A principal dificuldade na ozonização das cianotoxinas deve-se às reacções competitivas com a matéria orgânica e a alcalinidade. Rositano *et al.* (1998) examinaram a acção do ozono sobre uma cultura de *Microcystis aeruginosa* verificando que, com a adição de material orgânico, como por exemplo, extracto de células de algas, era necessário aumentar a dose para a oxidação das toxinas devido às reacções de competição com o material celular. Todavia, 1,0 mg/L de ozono foi suficiente para a remoção quase completa das microcistinas provenientes de uma solução de extracto de algas tóxicas contendo 220 µg/L, com um tempo de contacto de 5min. Hart *et al.* (1998) mostraram que doses entre 0,6 e 1,3 mg/L de ozono eram requeridas, principalmente para a lise celular das cianobactérias e quando a concentração atingia os 2 mg/L todas as microcistinas extracelulares eram oxidadas. Nas suas experiências sobre cinética, Shawwa & Smith (2001) evidenciaram a existência de uma fase de latência distinta antes de se iniciar a degradação da microcistina-LR, à medida que o valor do COD aumentava de 1 para 5 mg/L. Este intervalo de latência (“lag time”) significava que o ozono apenas actuou sobre quantidades relativamente residuais de microcistina-LR, após a maior parte deste ter sido consumida pelo COD. Assim, a oxidação incompleta das toxinas pode ocorrer se não permanecer nenhuma concentração residual de ozono. Contudo, Rositano *et al.* (2001)

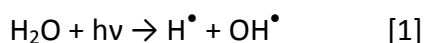
demonstraram que a destruição total das microcistinas –LR e -LA e de anatoxina-a é possível numa ampla gama de valores de alcalinidades e concentrações de COD em água bruta. Foi sugerido que as etapas de pré-ozonização e ozonização intermédia, em conjunto com filtração, medição online de ozono residual e monitorização regular de COT (carbono orgânico total) e/ou COD, devem ser capazes de fornecer água potável num contexto de tratamento para remoção de cianotoxinas (Hoeger *et al.*, 2002). Porém, dependendo da quantidade de células intactas de cianobactérias afluentes à ETA, talvez seja preferível cessar a pré-oxidação e otimizar a remoção física das células (e consequentemente das toxinas intracelulares) e após esta operação eliminar as toxinas dissolvidas com uma dose adequada de oxidante (Svrcek & Smith, 2004).

Do conjunto das microcistinas, anatoxinas-a e das diversas saxitoxinas, as primeiras parecem ser as mais fáceis de oxidar por meio de ozono (Rositano *et al.*, 2001). Esta facilidade pode ser atribuída às ligações duplas na molécula das microcistinas; os outros compostos, que variam marcadamente na sua estrutura, não têm conjugação ou aromaticidade e portanto possuem menos locais para serem oxidados pelos agentes.

Os estudos anteriormente citados sugerem que a ozonização é um método eficaz na remoção de microcistinas, nodularinas e anatoxina-a da água para consumo, nas doses normalmente aplicadas nas ETAs (cerca de 5 min de tempo de contacto com um residual de 0,2 mg/L ou mais). Newcombe *et al.* (2002) comprovaram que o mecanismo de toxicidade das microcistinas, medido através de ensaios de inibição da fosfatase proteica, também é destruído pela ozonização, sugerindo que os produtos originados pela sua decomposição são relativamente inócuos. Embora seja ainda necessário caracterizar os produtos da decomposição e a sua potencial implicação na saúde pública, a eficácia geral da ozonização como método apropriado para a purificação da água parece promissor na destruição de várias cianotoxinas (Svrcek & Smith, 2004; Falconer, 2005; Antoniou, 2010).

3.2.3. Fotólise UV

A absorção de radiações ultravioleta (UV) causa a quebra de uma ou mais ligações numa molécula sem a adição de produtos químicos. Por exemplo, a fotocatalise da água resulta em:



Desde meados dos anos 70 a radiação UV tem sido largamente aplicada para redução de microrganismos. Normalmente, este processo envolve a utilização de lâmpadas UV de baixa ou média pressão com comprimentos de onda que variam entre 200 e 300 nm ou gama UV-C (germicida) (Zhou & Smith, 2001; Westrick *et al.*, 2010). No tratamento da água, a dose de

UV – expressa em J/cm^2 – é geralmente utilizada para caracterizar a exposição total da substância ou do organismo à radiação UV. A dose de UV mais comum na inactivação da *Cryptosporidium parvum* é da ordem dos $40 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ para água potável (Svrcek & Smith, 2004).

Existem diversos mecanismos propostos em que a fotólise com luz UV poderá reduzir a toxicidade das microcistinas. A fotoisomerização pode ocorrer se um electrão em cada uma das ligações insaturadas do aminoácido ADDA for promovido a uma orbital de energia superior, causando a rotação em torno da ligação simples recém-formada (Tsuji *et al.*, 1994,1995; Kaya & Sano, 1998; Lawton & Robertson, 1999). Também pode ser possível uma ciclo-adicção interna no grupo ADDA entre as ligações insaturadas e o anel aromático, embora exista algum debate a respeito do potencial da geometria em U e da flexibilidade das microcistinas, que permitem esta ciclo-adicção (Lanaras *et al.*, 1991; Bagu *et al.*, 1995; Goldberg *et al.*, 1995; Kaya & Sano, 1998). A fotoexcitação da microcistina pode gerar um catião radical da microcistina e um anião radical superóxido, que por sua vez podem reagir entre si (Lawton & Robertson, 1999). O catião e o anião também podem reagir com outras espécies na água provocando posterior oxidação da toxina (He *et al.*, 1997).

Na presença de agentes sensibilizadores adequados também pode ser gerado oxigénio singlete ($^1\text{O}_2$). O oxigénio singlete é uma forma altamente reactiva em relação as ligações insaturadas e ao reagir forma produtos de oxidação tais como peróxidos, hidroperóxidos, dioxetanos e compostos carbonilo (Robertson *et al.*, 1999a). Talvez a descoberta mais interessante na pesquisa da fotólise UV tenha sido a das ficocianinas, um grupo de pigmentos fotossintéticos que são um dos componentes principais das células das cianobactérias, que podem actuar como agentes sensibilizadores e aumentar grandemente o processo de destruição. Sob a radiação solar natural, a fotodegradação das variantes das microcistinas era negligenciável até lhes serem adicionadas as ficocianinas (contudo a degradação completa ainda demorou cerca de um mês) (Tsuji *et al.*, 1994). O excesso de ficocianinas faz com que a taxa de decomposição seja mais rápida do que a de isomerização (Robertson *et al.*, 1999a), embora outros autores tenham confirmado que as baixas taxas de degradação por agentes fotosensibilizadores em águas naturais tornam esta via pouco atractiva para a remoção de microcistinas (Welker & Steinberg, 1999, 2000). Muito do trabalho realizado acerca de destruição pela fotólise não é aplicável à remoção de microcistinas em estações de tratamento. As doses de radiação UV que efectivamente degradam a microcistina, a anatoxina-a e a cylindrospermopsina variam entre $1\ 530$ e $20\ 000 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ (Tsuji *et al.*, 1994; Hrudehy *et al.*, 1999; Chorus & Bartam, 1999 e Senogles *et al.*, 2000), uma dose muito superior à necessária para desinfecção (valores típicos na gama dos 5 a $15 \text{ mJ}/\text{cm}^2$) (Metcalf & Eddy, 2003). A produção de microcistinas modificadas na natureza através da acção de compostos fotosensibilizadores como os ácidos húmicos e de

pigmentos como a ficocianina facilita a compreensão dos mecanismos naturais de destruição da toxina. Também permitiu a identificação de outros compostos relacionados com a microcistina, os quais podem entrar nas ETAs provenientes das massas de água superficiais (Robertson *et al.*, 1999a). A fotólise UV pode ser mais adequada à transformação de toxinas quando aplicada como processo oxidativo avançado.

3.2.4. Processos Oxidativos Avançados

A incapacidade dos processos convencionais para decompor os contaminantes persistentes e as desvantagens advindas de alguns processos avançados, tais como a formação de subprodutos e o elevado custo tornado-os muitas vezes inviáveis, estimulou o desenvolvimento de processos de tratamento emergentes como é o caso dos Processos Oxidativos Avançados (POAs) (Antoniou, 2010; Bard, 2004; Teixeira & Jardim, 2004). Estes sistemas provaram ser eficientes no tratamento de uma ampla gama de contaminantes orgânicos, tais como, tricloroetileno (TCE), percloroetileno (PCE), 1,4- dioxano, fenois, BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno, xileno), acetona e N-nitrosodimetilamina encontrados em massas águas subterrâneas contaminadas e efluentes industriais (Bolton 1999; Munter *et al.*, 2001; Zhou & Smith 2001).

Os POAs baseiam-se na formação de espécies altamente oxidantes, como os radicais hidroxilo (OH^\bullet) que destroem inúmeros compostos de forma rápida e não-selectiva conduzindo à mineralização parcial ou completa do contaminante (Andreozii *et al.*, 2000; Antoniou, 2010). Estes podem ser divididos em sistemas homogêneos e heterogêneos nos quais os radicais são gerados com ou sem radiação. Os processos que recorrem a catalisadores sólidos são denominados heterogêneos enquanto que os restantes são homogêneos (Bolton, 1999; Munter *et al.*, 2001; Teixeira & Jardim, 2004; Freitas, 2008). Os principais sistemas de POA estão descritos no Quadro 3.1.

Quadro 3.1 – Classificação dos Processos Oxidativos Avançados (adaptado de Teixeira & Jardim, 2004)

Sistema	Homogéneo	Heterogéneo
Sem radiação	$\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ Fenton ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$)	Electro-Fenton Oxidação electroquímica
Com radiação	$\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ O_3/UV $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ Foto-Fenton ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$)	Fotocatalizador/UV Fotocatalizador/ $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$

É de notar que a própria ozonização pode ser considerada um POA se for operada a níveis de pH elevados (acima de pH 8 a 9), no qual o ozono sofre uma decomposição formando OH^\bullet . (Metcalf & Eddy, 2003; Svcek & Smith, 2004).

A eficiência dos POAs depende do composto a oxidar, uma vez que as vias e cinética de reacção da formação de OH^\bullet é variada e complexa (Munter *et al.*, 2001; Zhou & Smith, 2001). Como tal, a escolha final de um sistema avançado só deve ser feita após testes preliminares em laboratório (Svcek & Smith, 2004).

3.2.4.1. Peróxido de Hidrogénio (H_2O_2)

O uso de peróxido de hidrogénio no tratamento da água é limitado (Lawton & Robertson, 1999). Embora a informação termodinâmica sugira que este deveria ser um oxidante eficaz, a cinética de muitas aplicações em tratamentos de água é desfavorável. Apesar disso, tem sido aplicado na remoção de contaminantes presentes em efluentes industriais (Freitas, 2008; Lawton & Robertson, 1999).

Pesquisas realizadas por Rositano & Nicholson (1994) demonstraram que o peróxido de hidrogénio não é eficaz na degradação da microcistina-LR, tendo-se verificado apenas 17% de remoção, após 60 min de contacto, com uma solução de 20 mg/L de H_2O_2 .

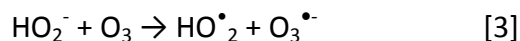
Um outro estudo realizado por Fawell e colaboradores (1993) mostrou que o peróxido de hidrogénio não era eficaz na remoção da microcistina-LR tanto em água bruta como em água tratada. Experiências posteriores confirmaram a ausência de efeito de 2mg/L de H_2O_2 sobre 1mg/L de solução de microcistina-LR, após 10min de contacto (Rositano *et al.*, 1998). Resultados semelhantes foram obtidos num estudo conduzido pela Water Services Association of Australia. Este demonstrou não só que o peróxido de hidrogénio era completamente ineficiente no tratamento da microcistina-LR, com também classificou as eficiências de oxidação de diversos métodos por ordem crescente (WSAA, 1996):

Peróxido de Hidrogénio + Ozono > Ozono > Permanganato de Potássio > Cloro >> Peróxido de Hidrogénio (com e sem UV) e Cloraminas

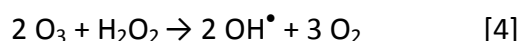
3.2.4.2. Peróxido de Hidrogénio + Ozono ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{O}_3$)

Existem várias formas de aumentar a capacidade de oxidação do peróxido de hidrogénio. A adição de H_2O_2 ao ozono acelera a decomposição deste gás, conduzindo à formação de radicais OH^\bullet (Munter *et al.*, 2001).





A reacção continua com a formação de radicais OH^\bullet a uma taxa superior à que se obteria somente com ozono (Zhou & Smith, 2001). A combinação das diferentes etapas de reacção mostra que duas moléculas de ozono formam dois radicais OH^\bullet .

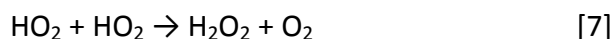
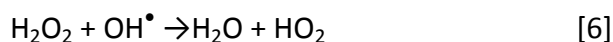


Após a formação dos radicais OH^\bullet , a propagação das reacções em cadeia dos radicais e a oxidação dos contaminantes segue mecanismos idênticos aos que ocorrem na ozonização em condições extremamente básicas (pHs muito elevados). A razão óptima de $\text{H}_2\text{O}_2:\text{O}_3$ varia geralmente entre 0,3 e 0,6 (Zhou & Smith 2001).

Segundo Rositano *et al.* (1998) a combinação de H_2O_2 com O_3 aumenta a eficiência de remoção de microcistinas, tanto a nível de velocidade como de quantidade removida. Com peróxido de hidrogénio a 0,1 mg/L e ozono a 0,2 mg/L (razão $\text{H}_2\text{O}_2:\text{O}_3$ de 0,5) estes investigadores obtiveram uma remoção total de 1 mg/L de MC-LR em apenas 30 min. Em outras experiências, obteve-se a remoção de 64% de microcistina-LR com doses de 0,01 mg/L de H_2O_2 e 0,02 mg/L de O_3 ; a microcistina transformou-se tão rapidamente que os investigadores foram incapazes de determinar as constantes de reacção.

3.2.4.3. Peróxido de Hidrogénio com radiação UV ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$)

A capacidade de oxidação do peróxido de hidrogénio também pode ser melhorada com o recurso a radiação UV. Através da acção da radiação UV, com comprimentos de onda inferiores a 280 nm, uma molécula de peróxido de hidrogénio é dissociada formando dois radicais OH^\bullet (Freitas, 2008). Estes, por sua vez, reagem com contaminantes orgânicos ou recombina-se formando novamente peróxido de hidrogénio (Zhou & Smith, 2001; Teixeira & Jardim, 2004).



A aplicação de $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ no tratamento de água com uma gama de contaminantes, incluindo aromáticos, álcoois, alifáticos e haloalifáticos, tem sido bem sucedida (Munter *et al.*, 2001). Em 1999, Bolton identificou este processo como o POA mais importante sob o ponto de

vista comercial. Deve ser adicionada uma quantidade suficiente de H_2O_2 , de forma a que seja absorvida aproximadamente 30% de radiação UV, com comprimentos de onda entre 200 e 300 nm (Svrcek & Smith, 2004). Contudo, se a amostra de água absorver a radiação UV na gama de 200 a 300nm ou se a alcalinidade for elevada, este processo pode não ser eficiente devido à absorção competitiva da radiação UV ou à captura dos radicais OH^\bullet .

Rositano & Nicholson (1994) utilizaram o sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, alcançando uma remoção de 50% de microcistina-LR com um tempo de contacto de 30min. Qiao e colaboradores (2005) recorrendo ao mesmo sistema, obtiveram uma eficiência de degradação da microcistina -RR de aproximadamente 95% em apenas 60 min. Estes autores também concluíram que uma dose de H_2O_2 superior ao valor óptimo (determinado experimentalmente) tem um efeito inibitório na degradação da toxina.

Cornish *et al.* (2000) compararam a eficiência de remoção de microcistinas pelos processos $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e $\text{H}_2\text{O}_2/\text{TiO}_2/\text{UV}$. Após 30 min de radiação, o nível de H_2O_2 decaiu para aproximadamente 8%, provavelmente devido à dissociação fotolítica deste em radicais OH^\bullet . A repetição dos ensaios com sistemas $\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2$, após a obtenção de uma destruição de toxinas superior a 90% em 30 min, originou um elevado erro padrão, que não é desejável no funcionamento de uma ETA, onde é necessário um controlo constante. Contudo, estas situações constituem também oportunidades para o aumento de pesquisas, investigando factores tais como doses de H_2O_2 , configurações experimentais, interações com matéria orgânica e alcalinidade (Svrcek & Smith, 2004).

3.2.4.4. Fenton ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$), Foto-Fenton ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$) e Electron-Fenton

A decomposição do H_2O_2 com ferro, conhecida como reacção Fenton, também resulta na formação de radicais OH^\bullet (Gajdek *et al.*, 2001). A aplicação da reacção Fenton como processo oxidativo na destruição de compostos orgânicos iniciou-se nos anos 60. (Huang *et al.*, 1993). Este sistema tem demonstrado elevadas eficiências de remoção de inúmeros contaminantes orgânicos (Antoniou, 2010).

Em muitos casos, o reagente Fenton é usado em combinação com a radiação UV, conhecido como reagente Foto-Fenton, como forma de ultrapassar certas limitações do processo, tais como a necessidade de grandes quantidades de ferro e a formação de precipitado que requerem tratamento posterior (Anipsitakis & Dionysiou, 2003).

Bandala *et al.* (2004) testaram o Fenton e o Foto-Fenton na degradação de microcistina-LR, tendo obtido uma eficiência de remoção de 84% com Foto-Fenton em 25 min e de 100% nos 10 a 15 min seguintes com uma concentração inicial de toxina e de ferro de 8 μM e

0,25mM, respectivamente. Gadjek *et al.* (2001) reportaram resultados semelhantes ao do estudo anterior recorrendo ao sistema Fenton.

Uma das limitações do Fenton é a presença de Fe^{3+} em solução, que tende a diminuir a velocidade de reacção do $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$, tornando-a muito lenta (Huang *et al.*, 2001). Numa tentativa de acelerar o processo, foi desenvolvido o mecanismo denominado electro-Fenton, que se baseia na electrogeração simultânea de peróxido de hidrogénio a partir da redução de dois electrões de O_2 no cátodo e a redução de ião férrico em ferroso.

Wang *et al.* (2005) testaram a reacção electro-Fenton, com recurso a cátodo de fibra de carvão activado como forma de destruição das microcistinas -RR e -LR, obtendo resultados muito promissores.

No entanto, uma grande desvantagem destes processos, que limitam a sua aplicabilidade em ETAs, é a necessidade de valores de pH extremamente baixos (de aproximadamente 3) (Svrcek & Smith, 2004).

3.2.4.5. Oxidação electroquímica

Os radicais OH^\bullet também podem ser gerados pela oxidação electroquímica. Este processo baseia-se na aplicação de uma corrente eléctrica, de 2 a 20A, em solução aquosa, entre dois eléctrodos. O processo electro-Fenton, anteriormente citado, é um caso especial de oxidação electroquímica em que é utilizado um ânodo de ferro (Teixeira & Jardim, 2004).

Liang *et al.* (2008) investigaram a aplicação da oxidação electroquímica com recurso a um ânodo Ti/RuO_2 para a inactivação da microcistina-LR. A remoção total da toxina foi obtida a uma densidade de corrente de 5mA/cm^2 . A vantagem deste sistema é que funciona em águas naturais sem a necessidade de ajustamento do pH.

Shi *et al.* (2005) comprovaram que as microcistinas podiam ser directa e eficientemente removidas por cloro activo transformado *in situ* pelo método electroquímico, a partir de iões cloreto presentes nos meios hídricos.

Apesar de com este processo não ser necessária a adição de produtos químicos, a eficiência de degradação é melhorada em condições ácidas.

3. Opções de Gestão e Tratamento de Águas para Consumo Humano

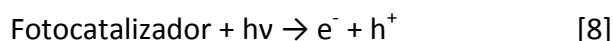
4. Fotocatálise heterogénea (UV/TiO₂)

O interesse inicial pela fotocatálise heterogénea data de 1972, quando Fujishima e Honda descobriram a divisão fotoquímica da água em hidrogénio e oxigénio por meio do TiO₂. Com o progresso das pesquisas nesta área científica, os investigadores descobriram o potencial dos processos fotocatalíticos, como forma alternativa de oxidar os compostos orgânicos em água, dióxido de carbono e minerais. Ollis e colaboradores, em 1983 e 1984, foram os primeiros a implementar a fotocatálise como método de purificação da água, realizando ensaios para a fotomineralização de hidrocarbonetos halogenados (Pruden & Ollis, 1983; Ollis *et al.*, 1984). Desde então, têm sido publicados inúmeros estudos que descrevem a eficiência do processo na destruição de diversas classes de compostos (Teixeira & Jardim, 2004; Sirtori, 2006; Chen *et al.*, 2000).

4.1. Reacção fotocatalítica

O termo fotocatálise provém da combinação das palavras fotoquímica e catálise, implicando assim o recurso a uma fonte luminosa e a um catalizador para provocar ou acelerar uma reacção química. Os catalizadores usados são geralmente semicondutores, que podem actuar como tal devido à sua estrutura electrónica específica caracterizada por uma banda de valência (BV) de baixa energia e uma banda de condução (BC) de alta energia (Mills *et al.*, 1993; Teixeira & Jardim, 2004). A diferença de energia, denominada por gap energético, entre a BV e a BC é relativamente pequena, na ordem de poucos electrão-volts (eV) (Lasa *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2000).

Um fóton com energia igual ou superior ao valor do gap energético do fotocatalizador empregue pode activar a catálise através da promoção de um electrão (e⁻) para a BC, deixando uma lacuna (h⁺) na BV. A ocorrência desta separação de cargas é um dos passos essenciais de uma reacção fotocatalítica. Este processo está descrito na equação 8 e na Figura 4.1.



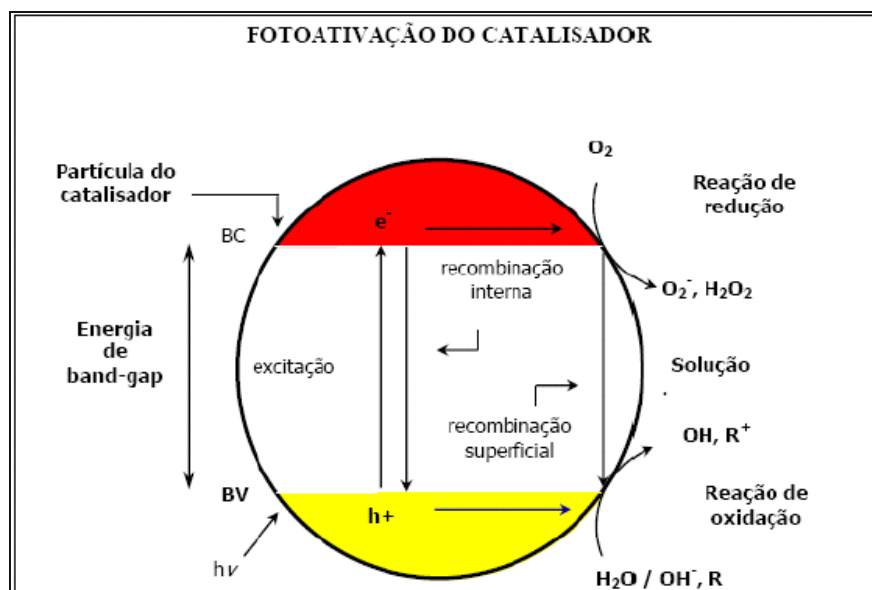


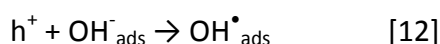
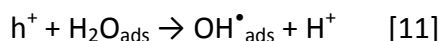
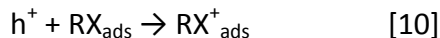
Figura 4.1 – Mecanismo simplificado para a fotoativação do catalisador (Teixeira & Jardim, 2004)

O par electrão-lacuna (e^-/h^+) formado pode posteriormente sofrer recombinação interna, com a subsequente libertação de calor ou migrar para a superfície do semiconductor. Na superfície, este pode sofrer recombinação externa ou participar em reacções de oxidação-redução, uma vez que o electrão na BC é moderadamente redutor e a lacuna na BV é fortemente oxidante (Chen *et al.*, 2000; Teixeira & Jardim, 2004).

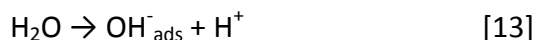


A recombinação do par (equação 9) pode ser considerada como um dos principais factores limitantes da eficiência do processo de fotocatalise (Lasa *et al.*, 2005).

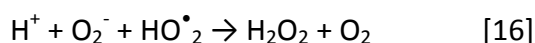
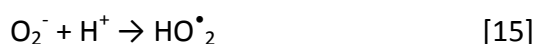
Nos sistemas aquosos, os constituintes mais importantes são a água, o oxigénio molecular e outras espécies dissolvidas, eventualmente contaminantes a serem removidos do sistema (Freitas, 2009; Sirtori, 2006). As lacunas podem reagir directamente com o poluente (RX_{ads}), a água ou o ião OH^- adsorvidos à superfície do fotocatalizador, de acordo com as equações 10, 11 e 12 (Lasa *et al.*, 2005; Sirtori, 2006).



O terceiro passo é de grande importância, principalmente devido às elevadas concentrações de OH⁻, tendo em conta a dissociação da água em iões (equação 13).



O oxigénio molecular actua como um receptor de espécies na reacção de transferência de electrões, evitando o processo de recombinação e desencadeando uma série de reacções que levam à formação de peróxido de hidrogénio (equações 14, 15, 16) (Teixeira & Jardim, 2004; Lasa *et al.*, 2005).



A fotoconversão do peróxido de hidrogénio permite a formação de mais radicais hidroxilo (equação 17).



Por fim, os radicais OH[•] oxidam os poluentes orgânicos (RX_{ads}) adsorvidos sobre a superfície da partícula do semiconductor.



Estes radicais, descritos na equação 18, são altamente reactivos, capazes de oxidar inúmeros compostos orgânicos, mineralizando-os e transformando-os em dióxido de carbono, água e iões inorgânicos (Shephard *et al.*, 1998; Al-Ekabi, 1993; Mills *et al.*, 1993).

Além do papel desempenhado pelo oxigénio como receptor de electrões, evitando a recombinação do par e⁻/h⁺, este também pode participar em reacções com radicais subsequentes que eventualmente levam à formação de espécies oxidantes secundárias como os aldeídos e as cetonas (Pichat, 2007; Schiwtzgebel *et al.*, 1995; Haick & Paz, 2003).

Existem duas explicações possíveis para as reacções fotocatalíticas. Enquanto que alguns autores (Mills & Hoffmann, 1993; Terzian *et al.*, 1991; Turchi & Ollis, 1990) sugerem uma oxidação indirecta através dos radicais OH[•] ligados à superfície do fotocatalizador (ver equações 12 e 18), outros (Draper & Fox, 1990) argumentam a favor da oxidação directa através das lacunas da BV (ver equação 10).

Apesar da falta de consenso em relação às etapas do processo fotocatalítico, os investigadores são unânimes em considerar que a adsorção dos contaminantes orgânicos tem um papel importante no processo. Fox & Dulay (1993) sugeriram que uma eficaz adsorção dos compostos orgânicos é um pré-requisito para a eficiência dos processos de oxidação com catalizadores heterogéneos devido à elevada rapidez de recombinação dos pares e^-/h^+ . Para que a transferência de electrões seja cineticamente competitiva é necessário que o aceitante ou dador esteja pré-adsorvido antes da excitação do fotocatalizador.

4.2. Factores que influenciam o processo

Na avaliação de um sistema fotocatalítico é necessário ter em consideração diversas variáveis destacando-se: o fotocatalizador, a concentração inicial do contaminante orgânico, as características da fonte luminosa, o efeito da temperatura e do pH, a forma do reactor e a presença de oxigénio (Mills *et al.*, 1993; Teixeira & Jardim, 2004; Vilela, 2009; Chen *et al.*, 2000).

4.2.1. Fotocatalizador

Uma vasta gama de óxidos metálicos semicondutores pode ser usada na fotocatálise, tais como TiO₂, o ZnO, o MgO, o WO₃, o Fe₂O₃ e o CdS. O fotocatalizador ideal deve reunir as seguintes características (Bhatkhande *et al.*, 2001; Cassano & Alfano, 2000; Fernandes, 2010; Fernandes, 2009):

- Apresentar fotossensibilidade;
- Ser química e biologicamente inerte;
- Apresentar resistência à fotocorrosão;
- Ter um valor de gap energético adequado para radiação visível ou UV;
- Ser de baixo custo;
- Não ser tóxico ou apresentar baixa toxicidade.

O TiO₂ é conhecido pelas suas excelentes propriedades de pigmentação, elevada estabilidade e valor de gap energético ideal para radiação UV, permitindo a sua utilização em diversas aplicações entre as quais a degradação fotocatalítica de compostos orgânicos na água (Al-Rasheed, 2005).

Este semicondutor pode cristalizar sob três formas alotrópicas distintas: anatase, rutilo e broquite (Figura 4.2). A estrutura anatase apresenta maior fotoactividade que a forma rutilo devido à sua elevada área superficial e estrutura cristalina, que promovem a

separação das cargas inibindo a recombinação e^-/h^+ (condição favorável ao processo fotocatalítico) (Fernandes, 2010; Teixeira & Jardim, 2004).

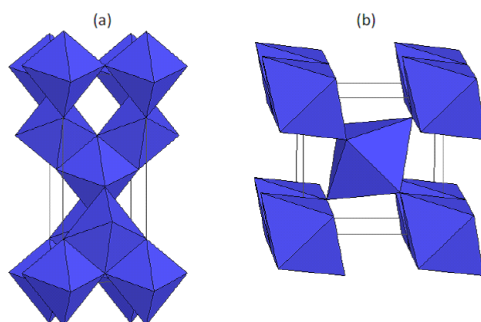


Figura 4.2 – Estrutura cristalina da (a) anatase e do (b) rutilo (Fernandes, 2009)

A maioria dos estudos publicados recorre ao TiO₂ comercialmente disponível, comumente denominado por Degussa P25. Esta preferência deve-se à sua natureza relativamente bem definida (combinação de aproximadamente 25% de rutilo com 75% de anatase, área superficial específica de $55 \pm 15 \text{ m}^2/\text{g}$ e tamanho médio das partículas de 30 nm) (Mills *et al.*, 1993 e Ohno *et al.*, 2001) e à actividade fotocatalítica que é substancialmente superior quando comparada à de outras amostras de TiO₂ disponíveis (Mills *et al.*, 1993).

Apesar das inúmeras vantagens, a possibilidade de aplicação generalizada do fotocatalizador TiO₂ é limitada pelos seguintes condicionalismos (Choi, 2007):

- O baixo rendimento quântico;
- A área superficial específica e porosidade baixas;
- A necessidade de remoção do catalizador após a sua aplicação no caso de se utilizar TiO₂ em suspensão.

Muitos investigadores têm constatado que a adopção da fotocatálise com TiO₂ nas sequências de tratamento de água deve recorrer à forma imobilizada num substrato inerte (Robertson *et al.*, 1999 e Shephard *et al.*, 2002). Este método pode ser mais prático, uma vez que a imobilização do TiO₂ elimina a necessidade de pós-tratamento adicional, nomeadamente a remoção das partículas do catalizador. Este aspecto é muito importante, pois estudos recentes evidenciaram preocupações acerca da possível toxicidade de nanopartículas residuais (Long *et al.*, 2006). Nogueira (2010) citou diversos estudos que descrevem os efeitos adversos oriundos da exposição às nanopartículas de TiO₂, tais como citotoxicidade, tumores, inflamações, reacções alérgicas, efisema pulmonar, entre outros.

No entanto, os sistemas em suspensão são mais eficientes quando comparados com os imobilizados devido à grande difusão das partículas na solução, o que ocasiona a diminuição da resistência à transferência de massa entre os radicais OH[•] e os compostos orgânicos a degradar (Vohra & Davis, 1993). Neste caso, um aumento da massa do catalizador causa o aumento da taxa de fotomineralização até um valor limite. Acima deste, o excesso de catalizador pode ocasionar a aglomeração das partículas e conseqüentemente a turvação do meio, bloqueando a passagem de luz (Tseng & Huang, 1990; Wei & Wan, 1991; Andreozii *et al.*, 2000 e Gogate *et al.*, 2002; Chiou *et al.*, 2008).

Além das propriedades cristalinas, que estão directamente relacionadas com a actividade fotocatalítica intrínseca do TiO₂, são igualmente relevantes as suas propriedades morfológicas, tais como a área superficial das partículas, o volume e a porosidade devido à acessibilidade dos reagentes para/e a partir dos sítios activos no catalizador (Mills *et al.*, 1993, Sclafani *et al.*, 1990; Choi, 2007).

4.2.2. Concentração inicial do contaminante orgânico

A variação da taxa de degradação com a concentração inicial do contaminante depende das características do poluente. Na maioria dos poluentes a taxa de degradação cresce com o aumento da sua concentração, até atingir um valor limite. No entanto, noutros contaminantes a taxa de degradação diminui com o aumento da sua concentração. Isto acontece, por exemplo, quando o poluente é capaz de absorver radiação UV no comprimento de onda da fonte luminosa. Com o aumento da concentração, o poluente vai cobrir o catalizador, impedindo a penetração da luz até à sua superfície. Assim, a cinética de fotomineralização vai desviar-se do expectável, provocando um decréscimo na taxa de degradação com o aumento da concentração do poluente. Em estudos de fotodegradação de corantes (Tariq *et al.*, 2006; Akyol & Bayaramoglu, 2005), também se verificou este desvio, pois o aumento da concentração do poluente leva a uma coloração mais intensa dificultando a penetração da luz no sistema fotocatalítico.

4.2.3. Características da fonte luminosa

Como referido anteriormente, para se iniciarem as reações fotocatalíticas é necessário gerar fotões através da radiação. A energia dos fotões depende, não só da intensidade luminosa fornecida ao processo fotocatalítico (Teixeira & Jardim, 2004) mas também do seu comprimento de onda.

O comprimento de onda deve corresponder ao valor do gap energético do fotocatalizador. Para o TiO₂ (anatase) esse valor é de 3,2eV corresponde a um comprimento de onda de 388 nm.

A taxa de degradação cresce, para um determinado comprimento de onda, com o aumento da intensidade de luz – numa relação linear para intensidades luminosas baixas e não linear para intensidades luminosas elevadas ($I^{1/2}$) (Teixeira & Jardim, 2005; Ollis *et al.*, 1991; Akyol *et al.*, 2004).

4.2.4. Efeito da temperatura

Segundo Gálvez e colaboradores (2001), a velocidade das reacções fotocatalíticas não sofre grande influência com a temperatura quando esta se encontra entre os 20 e os 80°C, sendo este um comportamento típico das reacções iniciadas pela absorção de fotões (Teixeira & Jardim, 2004; Fox & Dulay, 1993; Hofstadler *et al.*, 1994, Andreozzi *et al.*, 2000). Contudo, acima dos 80°C a isotérmica de adsorção dos reagentes torna-se desfavorável com o aumento da entropia do solvente, podendo reduzir a energia de activação do mesmo (Machado *et al.*, 2003).

4.2.5. Efeito do pH

Este parâmetro depende do tipo de composto orgânico a degradar e do pH do ponto de carga zero (pH_{pcz}) do fotocatalizador utilizado. Assim, para se obter uma elevada eficiência no processo, devem ser avaliadas as interações entre a superfície do catalizador e o substrato orgânico a degradar (Teixeira & Jardim, 2005; Fox & Dulay, 1993).

4.2.6. Forma do reactor

Apesar de alguns dos princípios físico-químicos da fotocatalise serem relativamente bem conhecidos, o design do reactor e a engenharia das unidades fotocatalíticas ainda requerem algumas considerações (Lasa *et al.*, 2005). Isto é particularmente importante no contexto de reactores em grande escala onde se realiza o processamento de grandes volumes de água, requerendo níveis elevados de irradiação. Cassano e colaboradores (1995) sublinharam que existem vários aspectos importantes na optimização e na operação de reactores fotoquímicos que normalmente não são considerados no projecto de reactores químicos convencionais, entre os quais destacam-se:

- A selecção das fontes de radiação, incluindo a potência de saída, a distribuição espectral, a forma, as dimensões, a manutenção e requisitos operacionais (tais como períodos de aquecimento e arrefecimento);
- O desenho da geometria do reactor em relação à fonte luminosa;

- A concepção dos dispositivos de irradiação do reactor, incluindo espelhos, refletores e janelas, materiais de construção, forma, dimensões e processos de limpeza.

4.2.7. Presença de oxigénio

Dijkstra *et al.* (2001) demonstraram que a fotocatálise é extremamente afectada pela ausência deste oxigénio no meio. Segundo Yamazaki *et al.* (2001) a presença de oxigénio reduz a taxa de recombinação dos pares e^-/h^+ à superfície do semiconductor, aumentando consequentemente a eficiência do processo.

4.3. Imobilização

Recentemente, muitas pesquisas têm sido realizadas para imobilizar o TiO₂ em diferentes substratos tais como membranas, vidro, cerâmicas, quartzo, aço inoxidável, entre outros (Sirtori, 2006; Antoniou *et al.*, 2008b; Choi, 2007).

Os filmes e membranas de TiO₂ possuem inerentemente múltiplas e simultâneas funções que incluem, não só a destruição de toxinas biológicas e a decomposição fotocatalítica de poluentes orgânicos, mas também a inactivação de microrganismos patogénicos, a separação física de contaminantes e a acção anti-incrustação. Este sistemas fotocatalíticos de tratamento de água podem ser usados como uma tecnologia isolada ou como suplemento e complemento das já existentes. Os revestimentos da TiO₂ também podem ser aplicados no desenvolvimento de eléctrodos e sensores altamente sensíveis para detectar moléculas orgânicas importantes no tratamento de água devido à actividade catalítica das nanoestruturas do TiO₂ (Choi, 2007).

Os filmes finos podem ser obtidos por dois processos distintos (Veiga, 2009; G. Santos, 2009):

1. Crescimento dos filmes por reacção da superfície do substrato com reagentes presentes na superfície;
2. Crescimento dos filmes por deposição sem reacção com o substrato, estando esta classe subdividida em três grupos:
 - 2.1. Deposição química a partir da fase vapor ou CVD (Chemical Vapor Deposition): neste processo, os filmes são formados pela reacção química de espécies convenientes na superfície do substrato;
 - 2.2. Deposição a partir de líquidos ou LPD (Liquid Phase Deposition): neste processo, a espécie que se encontra em forma líquida é gotejada e centrifugada sobre o substrato;

2.3. Deposição física a partir de vapor ou PVD (Physical Vapor Deposition): neste processo, as espécies que vão constituir o filme são arrancadas fisicamente de uma fonte, por efeito da temperatura (evaporação) ou por impacto de iões (Sputtering) e como o vapor, deslocam-se até ao substrato onde se condensam na forma de filmes. Neste caso, o ambiente é mantido em baixa pressão.

O filme fino utilizado nos ensaios de degradação da microcistina-LR foi produzido pelo grupo de investigação do CEFITEC, na Linha 2 – Física Molecular, Plasma e Aplicações, segundo o método de Sputtering ou Pulverização catódica (Figura 4.3).



Figura 4.3 - Fotografia da câmara de vácuo instalada no laboratório de Plasmas e Aplicações que foi utilizada para a produção de filmes finos (Fernandes, 2010)

O fenómeno de pulverização catódica, seguidamente explicado, tem como princípio físico a troca do momento linear e consequentemente da energia mecânica entre os iões do gás e os átomos constituintes do alvo (G. Santos, 2009; Veiga, 2009; Fernandes, 2010).

Numa atmosfera rarefeita aplica-se uma diferença de potencial de algumas centenas de volt entre o cátodo (alvo) e o ânodo (porta-substrato), estabelecendo-se entre eles uma descarga eléctrica luminescente (plasma). Nestas condições é possível, dentro de uma câmara de deposição e recorrendo-se ao efeito do campo eléctrico induzido, acelerar os iões formados pela descarga de plasma e direccioná-los para o cátodo. Inversamente, os electrões dirigem-se para o sentido do ânodo colidindo, durante o seu trajecto, com os átomos do gás ionizando-os positivamente. Os iões resultantes ao chocarem com o cátodo ejectam átomos do alvo em todas as direcções, depositando-se aleatoriamente nas superfícies mais próximas. Ao mesmo tempo, são libertados ainda mais electrões que fomentam a ionização do gás. É assim possível obter em substrato um filme, constituído

pelo material do alvo utilizado que é colocado no cátodo, como se pode observar na Figura 4.4 (G. Santos, 2009; Veiga, 2009; Fernandes, 2010).

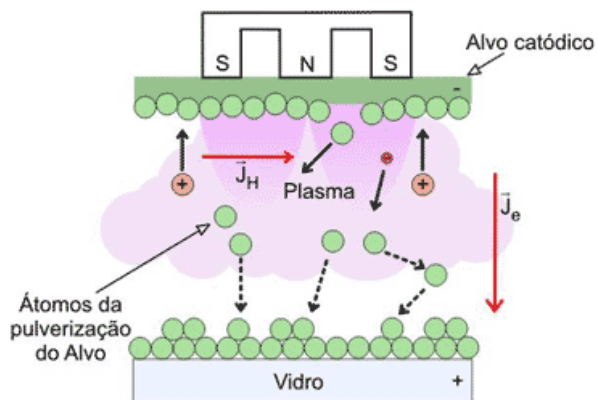


Figura 4.4 - Produção de filmes finos por pulverização catódica (G. Santos, 2009)

Esta técnica apresenta inúmeras vantagens, tais como (G. Santos, 2009; Veiga, 2009; Fernandes, 2010):

- Possibilidade de se controlar os parâmetros do sistema (pressão inicial e de trabalho, espécies químicas envolvidas e respectivos fluxos, entre outras) durante a deposição;
- Síntese de materiais de elevada pureza, devido às baixas pressões de trabalho;
- Melhoria na adesão do revestimento ao substrato, devido à possibilidade de “limpar” pulverizando (etching) e ainda de pré-aquecer os substratos através do bombardeamento iónico e neutral da superfície do substrato;
- Reprodução do substrato pela morfologia superficial do revestimento, não sendo necessário polimento;
- Utilização de temperaturas de deposição relativamente baixas;
- Não utilização de produtos ou soluções tóxicas durante o processo de deposição.

4.4. Luz Solar (visível + UV)

O facto do catalizador TiO₂ necessitar de radiação UV constitui uma limitação ao processo de tratamento de água devido ao seu elevado custo. Consequentemente tem havido um interesse significativo na utilização de luz solar como fonte de energia no tratamento fotocatalítico em larga escala (Bahnemann, 2004).

Contudo, a radiação UV representa somente uma faixa de 3 a 5% do espectro solar enquanto que aproximadamente 45% se encontra na região do visível. Por conseguinte, à superfície do planeta o fluxo UV típico é de 20-30 W/m², sendo que o sol gera 0,2-0,3 mol fotões/m².h entre os 300-400 nm para a utilização potencial pelos reactores fotocatalíticos (Bahnemann, 1994; Choi *et al.*, 2007a).

Se pudesse ser preparado um fotocatalizador que absorvesse radiação visível, o processo melhoraria significativamente, uma vez que se poderia utilizar luz solar na operacionalização do mesmo. Nesse sentido, alguns investigadores desenvolveram sistemas com TiO₂ dopados com iões metálicos que têm apresentado resultados promissores na degradação de compostos perclorados e óxidos de azoto (Bae & Choi, 2003; Lin *et al.*, 2006).

Por outro lado, a introdução de dopantes aniónicos no TiO₂, especialmente azoto, permite a diminuição do gap energético e consequentemente o aproveitamento da fracção visível da radiação solar (Choi *et al.*, 2007a; Yasunori, 2009).

4.5. Fotocatálise aplicada à degradação da MC-LR

No final dos anos 90, vários investigadores demonstraram que a microcistina-LR podia ser rapidamente destruídas através da fotocatalise utilizando TiO₂.

Robertson *et al.* (1997) e Shephard *et al.* (1998) utilizaram soluções de TiO₂ em suspensão para a remoção de microcistinas -LR, -YR e -YA, constatando que as toxinas eram completamente removida num período de tempo muito curto. As taxas de reacção dependiam fortemente da quantidade do catalizador utilizado.

A degradação da microcistina-LR está fortemente dependente do pH da solução tratada. Este define a carga total à superfície do TiO₂ e na microcistina e consequentemente a eficiência do sistema fotocatalítico.

Com o aumento do pH a carga total à superfície do TiO₂ altera-se de positiva para neutra e depois para negativa, situando-se o ponto de carga zero no pH≈6.4 (Figura 4.5) (Antoniou, 2010).

Relativamente à microcistina, a carga é determinada pela estrutura de cada derivado. Os ácidos glutâmico e metiloaspártico (comuns a quase todas as microcistinas) são ionizados em formas carboxiladas aniónicas a um pH de 3.0, formando dois iões negativamente carregados para a gama de pH remanescente (Feitz *et al.*, 1999 e Rivasseau *et al.*, 1998). Os aminoácidos nas posições 2 e 4 também contribuem para a carga total da toxina, em função do pH. No caso da microcistina-LR, a arginina (Arg) tem um grupo amino básico que

permanece protonado até condições básicas fortes (pH>12); como tal, a microcistina -LR transporta apenas uma carga negativa (-1) para valores de pH entre 3 e 12 (MCLR⁻H) (Figura 4.5) (Antoniou, 2010).

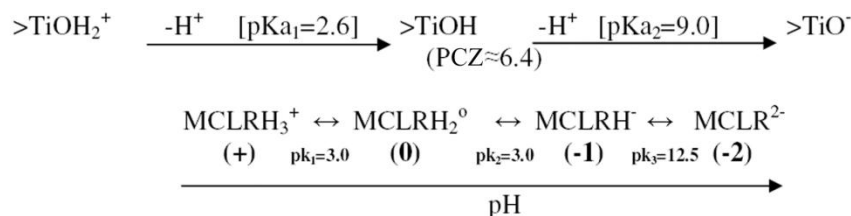


Figura 4.5 – Efeito do pH na superfície do TiO₂ e na microcistina-LR (adaptado Antoniou, 2010)

As taxas de degradação mais rápidas, obtidas em condições ácidas, são provavelmente o resultado das forças de atracção entre a superfície positivamente carregada do catalizador (TiOH₂⁺) e a toxina negativamente carregada (MCLR⁻H) (Feng *et al.*, 2005 e Antoniou *et al.*, 2008a). A um pH neutro, não se desenvolvem forças de atracção fortes entre o catalizador e a microcistina e a reacção da toxina com os radicais activos prossegue mais lentamente. Feitz *et al.* (1999) estabeleceram um pH óptimo de 3.0, que não é prático para o tratamento de água de abastecimento, tornando-se assim numa das maiores desvantagens da fotocatálise com TiO₂ (Westrick *et al.*, 2010).

Liu e colaboradores (2003) analisaram as vias de oxidação fotocatalítica da microcistina-LR, tendo concluído que o principal mecanismo de degradação fotocatalítica destas toxinas residia na isomerização, na substituição e na clivagem dos dienos conjugados do aminoácido ADDA.

Estudos posteriores realizados por Antoniou *et al.* (2008a,2008b) permitiram confirmar que os produtos de degradação se deviam ao ataque dos radicais OH[•] à cadeia hidrofóbica ADDA, nomeadamente ao anel aromático, ao grupo metoxila e ao dieno conjugado, e às ligações insaturadas do aminoácido Mdha (Figura 4.6).

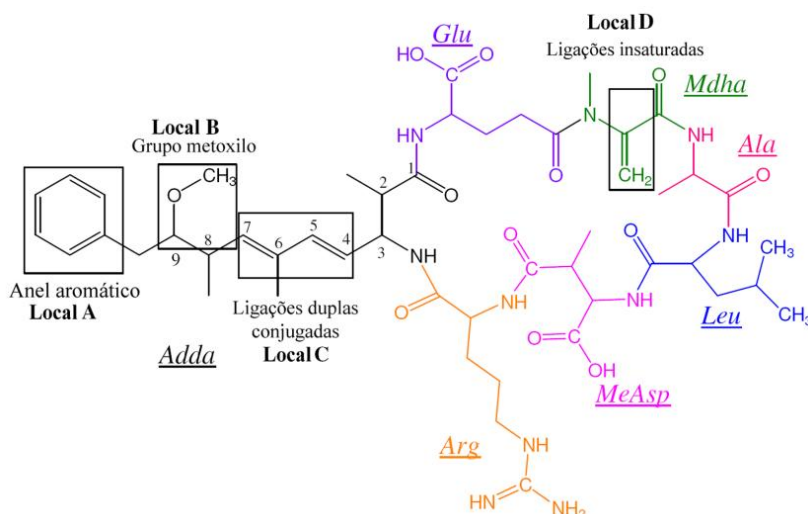


Figura 4.6 – Possíveis locais de ataque do TiO₂ à microcistina-LR (adaptado de Antoniou, 2010)

A principal limitação a este tratamento é a baixa eficiência de mineralização, que não ultrapassa os 10% (Lawton *et al.*, 1999). No entanto, mesmo quando a mineralização não é completa o potencial tóxico da microcistina-LR é removido quase por completo (Liu *et al.*, 2003 e Lee *et al.*, 2004).

Liu e colaboradores (2009) testaram diversos materiais TiO₂ comercialmente disponíveis, em pó (Degussa P25, Millenium PC50, Millenium PC500 e Hombikat UV100) e em granulado (KO1, KO3, TiCat-C, TiCat-S), verificando que o Degussa P25 foi o que apresentou maior eficiência de degradação, com mais de 90% da toxina (concentração inicial de microcistina-LR de 10 µg/mL) destruída em 20 min. Os restantes catalizadores apenas alcançaram uma destruição entre 25-60% no mesmo período de tempo.

Feng e colaboradores (2005) demonstraram que a microcistina-LR, cuja concentração inicial era de 20 µg/L, foi facilmente removida pelo sistema fotocatalítico constituído por filmes finos de TiO₂ irradiados com lâmpadas UV-A de baixa intensidade. Aproximadamente 50% da toxina foi degradada após 50min, com pH 6.7 e intensidade luminosa de 400 µW/cm². Este investigadores confirmaram que a taxa de destruição da toxina aumentava tanto com o acréscimo da concentração inicial da mesma como com o aumento da intensidade luminosa incidente.

A mesma dependência entre a taxa de degradação e a concentração da toxina foi comprovada por Antoniou *et al.* (2009); todavia, não é possível estabelecer uma comparação directa entre os resultados obtidos por estes investigadores (Antoniou *et al.*, 2009; Feng *et al.*, 2005), devido às diferenças no material de suporte do fotocatalizador, área revestida do mesmo, concentração inicial de toxina e intensidade de radiação.

Recentemente, Antoniou e colaboradores (2009) investigaram a forma como as propriedades morfológicas do TiO₂ imobilizado (espessura, porosidade, cristalinidade e área superficial) combinadas com importantes parâmetros da água (pH da solução e concentração inicial de toxina) podem afectar a degradação da microcistina-LR. Para tal, recorreram a filmes finos de TiO₂ imobilizados em placas de vidro e de aço inoxidável com diferentes áreas superficiais, diferentes espessuras (uma, três e cinco camadas de revestimento), concentração inicial de microcistina-LR de 2000 µg/L e variando o pH da solução entre 3.0 e 6.7.

Estes investigadores concluíram que aumento do número de camadas de revestimento (espessura) não influenciou significativamente a degradação da microcistina-LR, pelo que a adsorção e a degradação ocorreram apenas na camada exterior. O aumento da área superficial de contacto entre o líquido e o catalizador melhora as taxas de degradação mesmo quando o pH da solução é neutro, isto significa que um design do reactor mais eficiente pode contrariar os efeitos desfavoráveis induzidos pelo pH da solução e pela transferência de massa (Antoniou *et al.*, 2009).

Para testar o efeito da porosidade na degradação, estes autores recorreram a filmes de controlo preparados sem surfatante (Tween 80, Sigma) que apresentavam uma estrutura não porosa. A ausência de surfatante causou uma redução de 15% no desempenho dos filmes (Antoniou *et al.*, 2009).

Uma limitação da fotocatálise por TiO₂ é presença de ficocianina na água. Este pigmento da microscitina inibe a degradação fotocatalítica da microcistina-LR porque absorve a radiação no mesmo comprimento de onda que o catalizador, pelo que é necessário proceder à sua prévia remoção prévia (Robertson *et al.*, 1999b).

Lee e colaboradores (2004) demonstram que a microcistina-LR pode ser degradada num curto período de tempo (aproximadamente 20 min) em produtos não tóxicos recorrendo-se ao CAG revestido com TiO₂ irradiado com UV. Apesar do sucesso obtido com este sistema, as microcistinas podem ter ficado adsorvidas no carvão não sendo degradadas.

4.6. Fotocatálise aplicada à degradação da MC-LR com recurso à luz solar (UV + visível)

Choi *et al.* (2007a) recorreram a um catalizador dopado com azoto para a destruição de microcistinas com luz visível. Usando este catalizador, foram degradadas cerca de 50% de uma solução com 5 µM de MC-LR em 30 min, tendo alcançado a destruição virtualmente completa em 2h.

Palaez *et al.* (2009) estudaram a destruição fotocatalítica de microcistina-LR com recurso a um catalizador TiO₂ co-dopado com azoto e fluor, na forma de nanopartículas, activado com luz visível. A pH 3, a toxina foi completamente degradada em 300min, quando irradiada com radiação de comprimento de onda de 420nm.

Graham e colaboradores (2010) compararam a eficiência de cinco catalizadores, dois dos quais não foram modificados: TH (Titanhydrat, Kerr-McGee) e Degussa P25 enquanto que os restantes três foram dopados com carbono, platina e ródio (TiO₂-C, TiO₂-Pt(IV) e TiO₂-Rh(III), respectivamente), quando irradiados com luz visível. O TiO₂-Rh (III) provou ser o mais eficiente, com 90% da toxina destruída em 20min de irradiação sendo seguido pelo catalizador dopado com carbono. Os dois materiais comercialmente disponíveis (TH e P25) demonstraram ser catalizadores relativamente pobres quando usados com radiação visível e o TiO₂-Pt (IV) também apresentou uma actividade limitada na destruição da toxina.

Vilela (2009) investigou o efeito que um catalizador TiO₂ (não-dopado) iluminado com luz solar teve na degradação da [D-Leu]-microcistina-LR, uma variante da microcistina-LR. Este autor constatou que apenas a energia incidente na faixa UV-A era significativa para a activação do fotocatalizador utilizado.

Recentemente, Yang e colaboradores (2010) identificaram a estrutura de produtos intermédios resultantes da degradação da microcistina-LR por um fotocatalizador TiO₂ dopado com azoto (forma de nanopartículas) irradiado com luz visível (comprimento de onda > 420nm), à semelhança do que foi realizado por Liu *et al.* (2003) e Antoniou *et al.* (2008a,2008b) para o processo TiO₂/UV. Os resultados indicaram que o TiO₂ dopado com azoto (N-TiO₂) excitado pela luz visível pode activar o oxigénio molecular e deste modo alcançar a completa degradação das toxinas num período de 14h. A remoção de 59% de carbono orgânico total foi conseguida após 20h de irradiação. As principais espécies oxidativas do processo eram radicais hidroxilo e peróxido de hidrogénio. Foram identificados 13 produtos intermédios e propostas duas possíveis vias de degradação envolvendo principalmente o ataque oxidativo às quatro posições da microcistina-LR e a hidrolização das ligações péptidas (Yang *et al.*, 2010).

Embora o processo TiO₂/UV ainda seja relativamente mais eficiente, as vantagens de se ser capaz de utilizar luz visível (faixa pertencente ao espectro solar) para accionar este processo ultrapassa significativamente as cinéticas marginalmente rápidas sobre radiação UV. Contudo, pode existir risco potencial de toxicidade associada à utilização de materiais de titânio dopados com metais. Este risco dependeria da potencial filtração dos metais dopantes do titânio na água. Em qualquer aplicação comercial seria necessário avaliar o risco deste processo de filtração através do aprofundamento da investigação (Graham *et al.*, 2010).

5. Materiais e Métodos

Para se avaliar o efeito da fotocatalise na degradação da microcistina-LR (MC-LR), foram realizados quatro ensaios: três com radiação UV como fonte luminosa e um com radiação solar que inclui região do visível e de UV.

5.1. Amostras utilizadas

Os ensaios de degradação fotocatalítica com recurso à radiação UV e solar foram conduzidos com soluções de água ultra-pura artificialmente contaminadas com concentrações conhecidas de MC-LR.

5.2. Caracterização dos filmes finos

O filme fino de TiO_2 utilizado nos ensaios de degradação da MC-LR foi produzido pelo grupo de investigação do CEFITEC na Linha 2 – Física Molecular, Plasma e Aplicações, segundo o método de Pulverização catódica. O processo de deposição foi realizado em atmosfera de Ar e O_2 , a uma potência de 1000W, tendo sido utilizado como alvo o Ti metálico.

A caracterização estrutural do filme de TiO_2 foi realizada por difracção de raios X num difractómetro Philips Analytical PW 3050/60 X Rent Pro no Departamento de Química e Bioquímica da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. Este estudo demonstrou que o filme produzido cristalizou na estrutura cristalina anatase.

A caracterização das propriedades ópticas do filme fino foi realizada no CEFITEC/FCT na Linha 2 – Física Molecular, Plasma e Aplicações. Nesse estudo foram feitas medidas de transmitância recorrendo a um espectrofotómetro de UV-Vis, UV-2201 PC, que permitiram a posterior análise e determinação das propriedades ópticas, nomeadamente espessura, densidade, porosidade, gap energético e índice de refração do filme.

No Quadro 5.1 estão descritas as principais características do filme utilizado.

Quadro 5.1 – Características do filme de TiO_2 utilizado

Característica	Valor
Espessura	623 nm
Densidade	2.83 g/cm ³
Porosidade	37 %
Gap energético	3.33 eV
Índice de refração	2.22
Estrutura cristalina	Anatase

5.3. Determinação dos parâmetros pH e iluminância

A iluminância foi determinada com recurso a um luxímetro Extench Instruments Digital Light Meter Model LT 300, considerando-se a distância entre a lâmpada e a superfície do filme fino. Para os ensaios de degradação com recurso à radiação UV, a distância entre a lâmpada utilizada e a superfície do catalizador era de 19 cm. No ensaio de degradação com recurso à luz solar este valor correspondia a 16,5 cm.

O pH das soluções de ensaio foi averiguado recorrendo-se a papel indicador universal visto que apenas se pretendia verificar se o mesmo se encontrava na gama entre 5.0 e 6.0.

5.4. Ensaio de degradação da MC-LR com recurso à radiação UV

Foram realizados três ensaios de degradação fotocatalítica na presença de radiação UV e do filme fino de TiO_2 e um ensaio em branco cujo objectivo era avaliar o efeito isolado da radiação em condições experimentais idênticas e na ausência do filme.

Os ensaios foram conduzidos numa câmara de refrigeração, verificando-se a temperatura da mesma antes e após os ensaios de degradação.

O filme de TiO_2 foi colocado num suporte de teflon, propositadamente construído para o efeito e colocado no interior de um copo de vidro com 9 cm de diâmetro, que continha 1L de uma solução com 2 $\mu\text{g/L}$ de MC-LR mantida em agitação constante por meio de um agitador electromagnético. O recipiente foi posicionado no interior da câmara de refrigeração e iluminado por uma lâmpada UV colocada no topo da mesma, a uma distância de aproximadamente 19 cm da superfície do filme de TiO_2 (Figura 5.1).

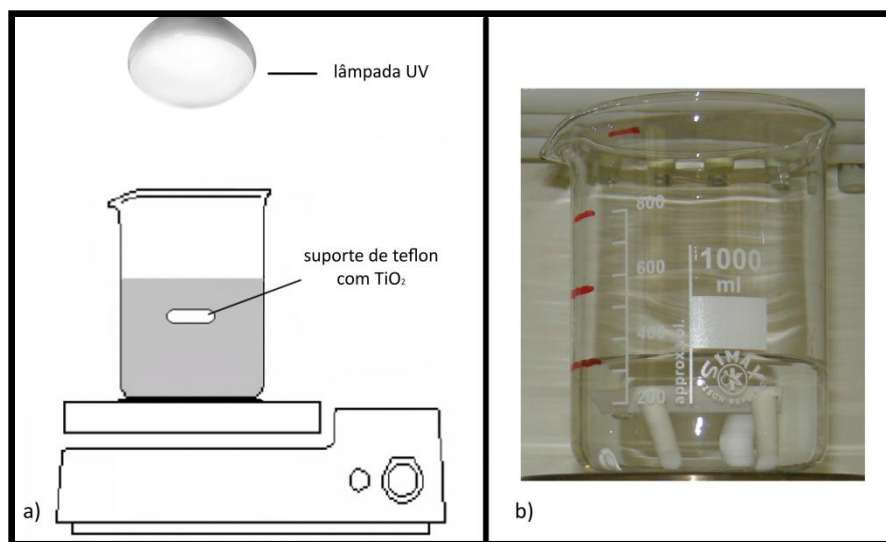


Figura 5.1 – (a) Esquema do ensaio de degradação da MC-LR com recurso à radiação UV e (b) fotografia pormenorizada do suporte de teflon colocado no interior do copo

Ao volume total (1L) foi previamente retirada uma fracção de 250mL para a determinação da concentração inicial de MC-LR. As restantes três fracções foram retiradas, para posterior análise, em intervalos fixos de 10 min, até um período máximo de exposição de 30 min, no ensaio 1.

Face aos resultados obtidos neste ensaio optou-se, nos ensaios posteriores e no ensaio em branco, por diminuir o tempo máximo de exposição para 20 min, tendo a primeira fracção sido retirada após 5 min de exposição à radiação e as subsquentes após 10 e 20 min, respectivamente.

5.5. Ensaio de degradação da MC-LR com recurso a radiação solar

Face aos resultados pouco conclusivos obtidos nos ensaios de degradação da MC-LR com a radiação UV, optou-se por realizar um ensaio de degradação fotocatalítica com recurso a lâmpadas que simulam o espectro solar.

Paralelamente a este foram conduzidos dois ensaios em branco sem fotocatalizador (filme de TiO_2), um dos quais irradiado com radiação solar e outro no escuro, isto é, na ausência de iluminação. No ensaio em branco e no ensaio no escuro pretendeu-se avaliar os efeitos isolados da presença e ausência da luz solar na degradação da MC-LR em condições experimentais idênticas às utilizadas no ensaio de degradação fotocatalítica.

Inicialmente foram preparados 5L de uma solução contendo 1 µg/L de MC-LR, dos quais se retiraram 500 mL para a determinação da concentração inicial da toxina. O restante volume foi repartido por três recipientes, um para o ensaio de degradação fotocatalítica e o restante para os ensaios em branco com iluminação e no escuro (Figura 5.2).

Para o ensaio de degradação fotocatalítica com luz solar, seguiu-se o mesmo procedimento utilizado nos ensaios de degradação fotocatalítica com radiação UV (descrito na alínea 5.4): o filme foi colocado num suporte de teflon no interior de um copo de vidro com 9 cm de diâmetro, o qual continha 1L da solução previamente preparada, que foi mantida em agitação constante durante o ensaio. Neste ensaio, a distância entre as lâmpadas e a superfície do catalizador era de 16,5 cm.

Para o ensaio em branco – ausência de catalizador e utilização isolada da luz solar – recorreu-se a um recipiente com dimensões idênticas ao anterior (9 cm de diâmetro), que também continha 1L da solução previamente preparada, a qual foi mantida em agitação contante durante o período de ensaio.

Para realização do ensaio no escuro – na ausência de luz e de catalizador – utilizou-se um recipiente fechado de vidro escurecido, no qual também foi colocado 1L da solução previamente preparada mas sem agitação.

Os três recipientes foram introduzidos numa câmara de cultura (Fitoclima 4600 – ARALAB), que simulava um período diurno de 12 horas e uma temperatura de 22°C e outro nocturno de igual duração (12h) e 18°C de temperatura.

Para o ensaio no escuro, seleccionou-se o local com menor iluminação no interior da câmara. Quanto aos restantes dois ensaios – fotocatalítico e em branco – procurou-se que os copos de vidro com a solução de MC-LR ficassem à mesma distância das lâmpadas e, para tal, foram escolhidos dois agitadores electromagnéticos com dimensões idênticas. A sua localização no interior da câmara de cultura também foi seleccionada de acordo com os valores de iluminância, que se pretendiam semelhantes para a posterior comparação dos resultados.

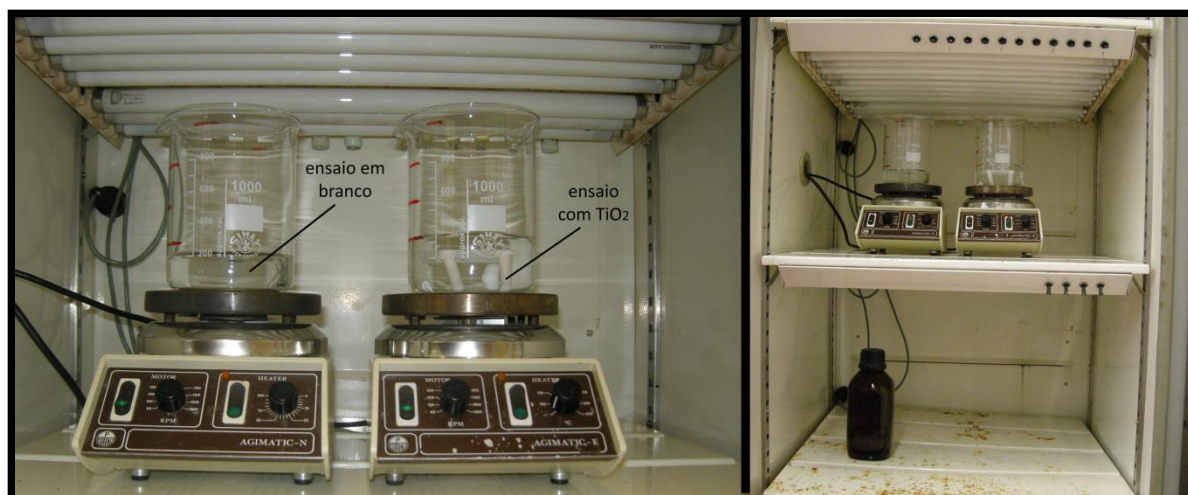


Figura 5.2 – Ensaio de degradação da MC-LR realizados na câmara de cultura

Os três ensaios de degradação da MC-LR – com catalizador e em branco com luz solar e no escuro – decorreram num período de tempo de 192h, o que corresponde a uma semana. A cada 24h, era retirada uma fracção de 250mL de solução de cada um dos recipientes separadamente. Nos ensaios de degradação fotocatalítica e em branco foi considerado o efeito acentuado da evaporação, uma vez que os copos de vidro não se encontravam fechados. Assim, antes de se proceder à recolha das amostras, o volume de água evaporado era repostado com água desionizada, de forma a totalizar um volume igual ao existente no período de recolha anterior (dia anterior).

5.6. Extracção e quantificação da MC-LR

A quantificação da microcistina das amostras foi efectuada a partir da extracção de 250mL de amostra de água através do método de Cromatografia Líquida de Alta Resolução com detecção por varrimento de fotodíodos (HPLC/PDA). Antes desta análise foi realizada a extracção da MC-LR das fracções de 250mL contendo a toxina.

Na extracção da MC-LR foram utilizadas colunas de extracção em fase sólida (SPE – Solid Phase Extraction) do tipo C-18, da marca Sep-pak Cartidge vac 6cc, Waters.

Inicialmente procedeu-se ao acondicionamento do absorvente C-18 (cartucho) com 3mL de metanol seguido de 5mL de água destilada. Posteriormente, a cada cartucho, foram adicionados 250mL da fracção para análise contendo MC-LR, controlando-se o fluxo de aproximadamente 10mL/min. Os cartuchos foram em seguida lavados com 2mL de metanol a 20% e as toxinas eluídas com uma solução de 0,2% de ácido trifluoracético (TFA) e metanol. As fracções foram evaporadas em corrente de azoto e os resíduos resultantes

redissolvidos em 250µl de metanol a 50% e centrifugados, durante 10min, a 13000 rpm. Por fim, o sobrenadante foi analisado por HPLC/PDA.

O método HPLC baseia-se na leitura de elementos constituintes de uma amostra, comparando o tempo de retenção do padrão com o tempo das moléculas a analisar (Regueiras, 2009). Este método é o mais utilizado na identificação e quantificação de variantes de microcistinas devido aos seus tempos de retenção específicos (Lawton *et al.*, 1994).

O sobrenadante a analisar é injectado no cromatografo, pela coluna C18 com um gradiente de acetonitrilo e água, ambos acidificados com TFA. Consoante a polaridade, as microcistinas vão sendo retidas durante mais ou menos tempo neste sistema (tempo de retenção). À saída da coluna encontra-se um detector fotodíodo (PDA) que capta a absorção pelas substâncias que vão saindo. A microcistina-LR caracteriza-se por ter um espectro de adsorção máximo a 238 nm – na banda UV (Figura 5.3) devido ao aminoácido ADDA (Lawton *et al.*, 1994).

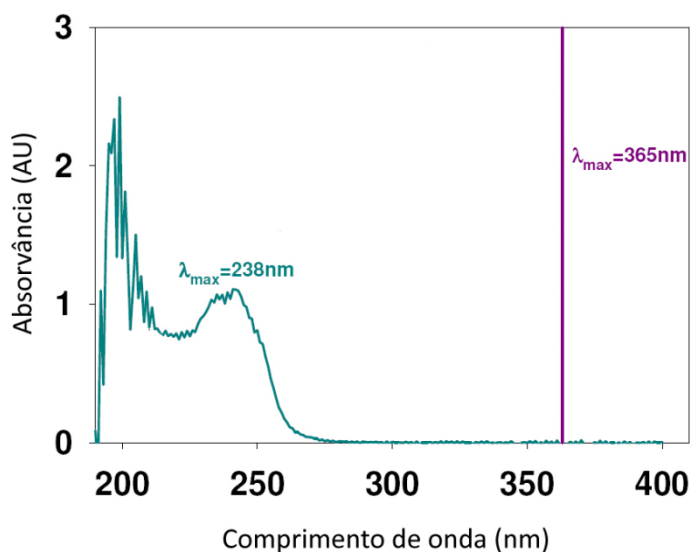


Figura 5.3 – Espectro UV-Vis da microcistina-LR (a pH 5.7) (adaptado Antoniou, 2010)

Cada fracção correu no HPLC durante 30 min. As microcistinas foram detectadas por comparação com um padrão de microcistina-LR que correu sempre no início de cada série.

O instrumento utilizado para a análise foi um cromatógrafo da Dionex equipado com detector UV-VIS (UVD 340S) e software Chromeleon para processamento de dados cromatográficos. A separação das toxinas foi efectuada numa coluna C18 em fase reversa (3µm, 4,6x150 mm, Acclaim 120 Dionex) a temperatura controlada (40°C). A fase móvel foi

composta por acetonitrilo e água, ambos acidificados com TFA, a 0,05% (v/v), utilizando gradiente de eluição, com um fluxo constante de 1 mL/min (Lawton *et al.*, 1994; Meriluoto, 1997; Meriluoto *et al.*, 2000; Meriluoto & Codd, 2005).

6. Resultados e Discussão

6.1. Ensaio de degradação com recurso à radiação UV

Apesar de os ensaios terem sido conduzidos numa câmara refrigerada, o calor libertado pela lâmpada utilizada provocou um aumento considerável da temperatura ao longo do tempo de duração dos mesmos.

A fotocatalise não sofre grande influência da temperatura na gama entre 20°C e 80°C, no entanto a impossibilidade de manter a temperatura no interior da câmara dificultou a comparação dos resultados entre ensaios.

No ensaio 2 o aumento de temperatura foi de 8°C. Neste ensaio, este acentuado aumento da temperatura, provavelmente deveu-se ao tempo de irradiação total, uma vez que nesse dia foram realizados dois ensaios de seguida (nomeadamente o ensaio 2 e o ensaio em branco), pelo que o tempo total de irradiação da luz dentro da câmara foi superior a 40min (soma dos intervalos de tempo de ambos os ensaios).

Apesar de menor, também se verificou um aumento de temperatura de 6°C no ensaio 3, após um período de tempo de aproximadamente 40 min.

A iluminância foi medida considerando a distância de 19 cm entre o fotocatalizador e a lâmpada UV, apresentado um valor de aproximadamente 4klx. Teoricamente não é possível fazer a conversão para intensidade luminosa (W/cm^2).

Como os resultados obtidos no ensaio 3 e no ensaio em branco não foram conclusivos optou-se por não serem apresentados nesta dissertação, embora tenham sido realizados segundo a metodologia anteriormente descrita e os resultados terem sido verificados.

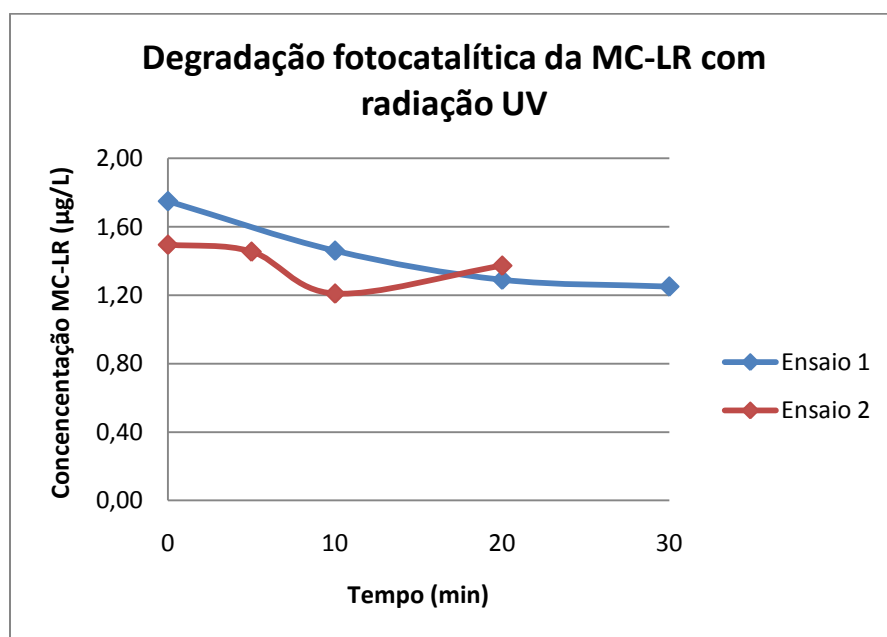
Os resultados obtidos nos ensaios 1 e 2 estão descritos nos Quadros 6.1 e 6.2 e na Figura 6.1.

Quadro 6.1 – Resultados do ensaio 1 com TiO_2 em suporte inerte

Amostra	Tempo (min)	Concentração de MC-LR ($\mu\text{g}/\text{L}$)	Remoção (%)	Evolução Remoção (%)
T0	0	1,75		
T1	10	1,46	17	17
T2	20	1,29	26	10
T3	30	1,25	29	2

Quadro 6.2 – Resultados do ensaio 2 com TiO_2 em suporte inerte

Amostra	Tempo (min)	Concentração de MC-LR ($\mu\text{g/L}$)	Remoção (%)	Evolução Remoção (%)
T0	0	1,50		
T1	5	1,46	3	3
T2	10	1,21	19	16
T3	20	1,37	8	-

Figura 6.1 – Ensaio 1 e 2 com TiO_2 em suporte inerte

De acordo com a Figura 6.1, em termos gerais, não se verificou uma degradação significativa da MC-LR nos ensaios 1 e 2, constatando-se que, ao fim de 30 min, ainda não tinha sido atingido o valor exigido por lei ($1\mu\text{g/L}$). No entanto, é de salientar que, ao fim de 10 min de exposição à radiação UV, se obtiveram percentagens de remoção similares nos dois ensaios. No ensaio 1, a remoção foi de 17% e no ensaio 2 alcançou-se uma remoção de 19% (Quadro 6.1 e Quadro 6.2).

Uma vez que, a maior percentagem de evolução de remoção da MC-LR ocorreu nos primeiros 10 min de ensaio, como se pode constatar no Quadro 6.1, optou-se por reduzir o tempo de exposição máxima, nos ensaios posteriores. Assim, a primeira fracção de amostra (250mL) foi retirada ao fim de 5min de iluminação. Contudo, como se pode observar no

Quadro 6.2, a evolução de remoção correspondente a 3%, foi inferior à expectável tendo em conta os valores obtidos no ensaio 1.

A análise dos resultados do Quadro 6.2, também permitiu verificar que a concentração de MC-LR aumentou 0,16µg/L, no ensaio 2. Este aumento pode, provavelmente, ser explicado pelo efeito acentuado da evaporação no interior da câmara. Este efeito provocou uma diminuição no volume da amostra T3, que por esta razão deixou de corresponder a 250mL, descritos na metodologia. Supõe-se que esta redução de volume de solução terá contribuído para o aumento da concentração da toxina na amostra T3 do ensaio 2, pelo que o valor apresentado no Quadro 6.2 pode não equivaler ao real efeito de degradação fotocatalítica testada.

Face aos resultados obtidos no presente estudo e considerando que o processo fotocatalítico é influenciado por diversos factores, é importante salientar que: o pH e o volume de solução, a forma do reactor, a concentração inicial da MC-LR, a fonte luminosa, o tempo de exposição à radiação e as propriedades ópticas e morfológicas do fotocatalizador, nomeadamente o gap energético, a porosidade, a espessura e a área superficial de contacto podem ter contribuído para o efeito pouco significativo da degradação fotocatalítica da MC-LR no presente estudo.

A destruição da MC-LR com TiO_2 é mais eficiente em condições ácidas (gama de pH entre 3.0 e 4.0) devido às forças de atracção formadas entre superfície do catalizador positivamente carregada (TiOH_2^+) e a toxina negativamente carregada (MCLRH^-). A um pH neutro, estas forças de atracção fortes entre o TiO_2 e a MC-LR não se desenvolvem, fazendo com que as reacções da microcistina com os radicais activos sejam mais lentas (Antoniou *et al.*, 2009). No entanto, neste trabalho experimental optou-se por manter o pH na gama entre 5.0 e 6.0, visto que se pretendia verificar o efeito da degradação da toxina em condições básicas e consequentemente ultrapassar uma das grandes desvantagens apontadas à fotocatalise com TiO_2 .

Constatou-se que o volume de solução utilizado nos ensaios, correspondente a um litro, poderia ser muito elevado para a área superficial do filme de TiO_2 empregue. Feng *et al.* (2005) recorreram a volumes dez vezes inferiores aos utilizados nestes ensaios para degradar concentrações de toxina duas a dez vezes superiores à utilizada nos ensaios do presente estudo. Contudo, a aplicação de mais filmes implicaria a execução de um novo suporte de teflon de maiores dimensões, o que poderia não ser adequado para o recipiente utilizado e disponível para a realização destes ensaios.

Em grande parte dos estudos publicados que referem ensaios realizados à escala laboratorial, a análise à configuração do reactor fotocatalítico e o seu impacto nos

resultados da degradação da MC-LR é pouco aprofundada, focando-se apenas nas vantagens e desvantagens práticas da utilização do catalizador TiO_2 na forma de nanopartículas ou imobilizado num substrato. As variações de resultados de fotodegradação da toxina relacionadas com a diferença de geometria, de volume do reactor e da potência da fonte luminosa, bem como os seus efeitos na eficiência da degradação fotocatalítica ainda estão por esclarecer. À partida, a forma redonda do reactor utilizado nestes ensaios (copo) e da placa de vidro rectangular (material com TiO_2 imobilizado) poderá ter contribuído para a redução da área de exposição entre a solução (líquido) e a placa, pelo que a adsorção e a degradação da MC-LR poderá ter sido mais lenta, necessitando de tempos de exposição mais prolongados à radiação UV para que os resultados de degradação fossem superiores aos obtidos.

A actividade fotocatalítica é influenciada não só pela estrutura cristalina do catalizador como também pelas suas características morfológicas – área superficial, espessura e porosidade – visto que estas afectam o número de sítios activos no catalizador, o transporte dos reagentes/produtos de e para os sítios do catalizador, a energia de activação, bem como as taxas de formação e de recombinação dos pares e^-/h^+ .

A área superficial é um parâmetro crítico uma vez que os radicais OH^\bullet se formam e reagem principalmente à superfície do catalizador e em menor extensão no meio envolvente (Antoniou *et al.*, 2009 e Robertson *et al.*, 1997). No caso da utilização de somente um filme de TiO_2 , a degradação da MC-LR pode ser limitada pela disponibilidade de sítios activos na superfície do fotocatalizador para a complexação da toxina. Num estudo realizado por Antoniou *et al.* (2009), o aumento do número de filmes no reactor traduziu-se numa melhoria da taxa de degradação, independentemente do pH da solução. É de salientar que o aumento das taxas de degradação fotocatalítica da MC-LR, obtidas por estes investigadores, devido ao acréscimo da área superficial é mais acentuado para valores de pH inferiores 6.0, visto que as reacções entre a toxina e os radicais activos, em condições ácidas, ocorrem principalmente à superfície do catalizador. Provavelmente, no caso dos ensaios descritos neste estudo, um aumento do número de filmes, isto é, da área superficial disponível poderia melhorar as taxas de degradação da MC-LR.

A espessura e a porosidade do fotocatalizador afectam não só a capacidade de adsorção da MC-LR como também as reacções entre esta e os radicais OH^\bullet à superfície do TiO_2 .

Antoniou *et al.* (2009) concluíram que o aumento da espessura do filme não provoca uma melhoria na degradação da MC-LR, uma vez que a toxina não conseguia atingir as camadas interiores e reagir com os radicais OH^\bullet , apesar da luz penetrar nas camadas interiores do filme transparente e activar o fotocatalizador. Perante os resultados, os investigadores concluíram que a adsorção e a degradação da MC-LR ocorreram apenas na camada exterior

do TiO_2 . Salienta-se, no entanto que, o aumento da espessura até um determinado valor – no caso do estudo mencionado o número óptimo de camadas proposto é de 3 (cada camada com $0,3\mu\text{m}$) – em condições neutras, pode favorecer a degradação visto que não ocorrem limitações de transferência de massa de toxina tão acentuadas como as que ocorrem a pHs ácidos. Uma possível explicação para esta observação pode residir no facto das moléculas iniciais da toxina (diâmetro médio da MC-LR entre 1.2 e 2.6 nm), que adsorvem fortemente nos mesoporos (dimensão do poro entre 3 e 7 nm), devido às forças de atracção desenvolvidas entre a toxina e o TiO_2 bloquearem a passagem das restantes moléculas e inibirem a penetração da toxina em direcção às camadas interiores. Se forem utilizados filmes com uma estrutura macroporosa esta situação não se verifica, uma vez que a MC-LR é capaz de penetrar nas camadas interiores (Lawton *et al.*, 1999).

Num estudo antecedente, Antoniou e colaboradores (2008b) compararam o efeito, a pH neutro, que dois filmes macroporosos com diferentes espessuras ($6,7\mu\text{m}$ e $0,3\mu\text{m}$) tiveram na degradação da MC-LR. Estes investigadores constataram que, em condições experimentais idênticas, a degradação da MC-LR foi mais rápida quando era utilizado o filme com maior espessura. Esta melhoria na degradação deveu-se, principalmente à maior quantidade de catalizador imobilizado na placa de aço inoxidável (27 vezes mais catalizador por cm^2). Contudo, mesmo recorrendo a um filme com maior espessura, o tempo de degradação da MC-LR foi muito prolongado (cerca de 8h) comparativamente a estudos de fotocatalise anteriores (cerca de 1h) (Liu *et al.*, 2003).

Teoricamente, o aumento da porosidade dos filmes fotocatalíticos aumenta a área de contacto entre o catalizador e a solução contendo a toxina, o que favorece a adsorção desta no filme e a sua degradação. Antoniou *et al.* (2009) compararam o efeito que dois filmes com diferentes porosidades (12,6% e 46,2%) tiveram na degradação da MC-LR, a pHs neutro e ácido, constatando que o filme menos poroso teve um desempenho inferior em ambos os pHs.

No caso dos ensaios realizados no presente estudo, não foi possível aferir a influência que a espessura e a porosidade tiveram na degradação da MC-LR, uma vez que não foram realizados ensaios comparativos com condições experimentais idênticas mas utilizando-se filmes com características morfológicas distintas.

Na maioria da literatura mencionada, as concentrações de toxina (μM) utilizadas excedem grandemente as que ocorrem na natureza (nM-pM) permitindo assim, a quantificação directa destas através do HPLC, eliminando-se consequentemente as múltiplas etapas que seriam necessárias com concentrações inferiores (Robertson *et al.*, 1997, 1998; Shephard *et al.*, 1998; Lawton *et al.*, 1999; Antoniou *et al.*, 2009; 2008b; 2008a; Feng *et al.*, 2005). Contudo, esta simplificação metodológica conduz à escassez de informação relativa à

destruição fotocatalítica de MC-LR em concentrações inferiores ($\mu\text{g/L}$). Assim, optou-se neste trabalho experimental por utilizar uma concentração inicial de $2\mu\text{g/L}$ de MC-LR similar às habitualmente encontradas na natureza.

Por outro lado, a energia necessária para activar o fotocatalizador utilizado nos ensaios, isto é, o seu gap energético, tem de ser superior a 3,33 eV, o que corresponde à radiação UV cujo comprimento de onda é menor que 388nm. De um modo geral, qualquer fonte que emita radiação nesse comprimento de onda pode ser usada para promover as reacções catalíticas. A lâmpada UV utilizada nos ensaios de degradação poderia não ter o comprimento de onda correspondente ao valor do gap energético do fotocatalizador, não se dando consequentemente a sua activação. Como não são conhecidas as características da lâmpada – comprimento de onda, intensidade de radiação e potência – não é possível estabelecer uma comparação com lâmpadas usadas noutros estudos nem concluir sobre a sua possível adequação ao ensaio.

Um importante aspecto a assinalar é a escolha da fonte de UV. Alguns investigadores (Sherpard *et al.*, 1998; 2002; Robertson *et al.*, 1997; 1998) recorrem a lâmpadas germicidas (UV-C, 245nm) ou lâmpadas Xenon UV (UV-A, 330-450nm) com elevada intensidade, para os seus estudos. A MC-LR é um composto muito estável e não-volátil devido à sua estrutura cíclica (Antoniou *et al.*, 2007). Esta não absorve radiação com 365nm pelo que a fotólise directa não é observável neste comprimento de onda (Antoniou *et al.*, 2008a; 2009; Feng *et al.*, 2005). Assim, nos estudos mais recentes (Antoniou *et al.*, 2008a, 2008b, 2009; Feng *et al.*, 2005) é recorrente a utilização de lâmpadas UV-A de baixa intensidade, não só para evitar a fotólise directa que distorce os resultados da real degradação provocada pela fotocatalise, mas também porque a irradiação UV-A de baixa intensidade, que simula a luz solar, é na prática mais interessante que a radiação de alta intensidade, especialmente durante o Verão quando ocorrem os *blooms* e a radiação solar actua como principal fonte UV na natureza.

Os intervalos de tempo considerados neste estudo são relativamente curtos comparativamente aos aplicados nos artigos consultados. Antoniou *et al.* (2009) e Feng *et al.* (2005) utilizaram, nos seus ensaios, tempos de degradação máxima de 250 min (4h). Porém, neste trabalho experimental, não foi viável prolongar esses intervalos devido ao rápido aumento de temperatura na câmara e ao consequente efeito da evaporação anteriormente referido.

Além dos parâmetros mencionados, a distância entre a lâmpada e o catalizador também pode ter influenciado os resultados obtidos. De um modo geral, a taxa de degradação fotocatalítica é proporcional à expressão exponencial da intensidade da radiação UV num determinado comprimento de onda, o qual é inversamente proporcional ao quadrado da

distância. Assim, uma diminuição da distância entre a lâmpada e o filme de TiO_2 poderia eventualmente melhorar as taxas de degradação da toxina.

Segundo Teixeira & Jardim (2004) e Mills *et al.* (1993) a actividade fotocatalítica é influenciada pelo método de preparação do catalizador, uma vez que este afecta directamente as características morfológicas do filme. Em nenhum dos estudos consultados que recorrem a fotocatalizadores imobilizados, é referida a utilização do método de pulverização catódica para a obtenção de filmes finos de TiO_2 .

Devido aos resultados pouco credíveis obtidos nos ensaios 3 e em branco, optou-se por uma alteração no método aplicado. Para tal, após consulta bibliográfica ponderou-se diminuir o volume para 10mL e a distância de lâmpada ao filme para 5 cm e a aumentar a concentração inicial para 1 $\mu\text{g/mL}$ e o tempo máximo de degradação para 120 min com intervalos fixos de 30 min. Assim, era possível realizar-se directamente a análise por HPLC, eliminando-se as múltiplas etapas metodológicas e limitando-se consequentemente os erros experimentais.

Antes de se proceder a estas alterações era necessário verificar o efeito da evaporação que podia limitar a sua execução. Para tal, colocou-se um volume de 9 mL de água numa caixa de petri e uma placa de vidro com as mesmas dimensões do filme fino utilizado anteriormente. O volume em falta (1mL) corresponde à amostra do tempo zero (T_0). Após alguns ensaios concluiu-se ao fim de 60 min de exposição, metade do volume tinha evaporado pelo que era essencial fechar o recipiente com um material que não absorva a radiação no mesmo comprimento de onda da fonte luminosa, por exemplo quartzo. Devido à inexistência deste material no laboratório optou-se pela realização de um ensaio de degradação fotocatalítica usando luz solar.

Apesar dos resultados apresentados neste estudo traduzirem uma taxa de degradação da toxina pouco significativa, considera-se que, face às limitações inerentes à metodologia adoptada, os resultados foram interessantes e promissores.

6.2. Ensaio de degradação com recurso à radiação solar

Foi realizado um ensaio com recurso ao espectro solar, no qual se verificou o efeito do TiO_2 , da irradiação solar e da ausência de ambos sobre as toxinas.

O fluxo luminoso não é distribuído uniformemente pelo que a iluminância não será a mesma em todos os pontos da área medida. A iluminância nos ensaios em branco e com filme variava entre 8,80 e 11,0 klx, sendo a distância entre o filme e as lâmpadas de 16,5 cm. De acordo com o Low-Light Performance Calculator, a luz solar directa está

compreendida entre os valores 32 e 130 klx e sem incidência directa do sol entre 10 e 25 klx.

O ensaio no escuro realizou-se num recipiente de vidro escurecido, que foi colocado numa zona da câmara com baixa iluminação. Contudo, mediu-se na mesma a iluminância nesta área, que foi de aproximadamente 0,40 klx, valor idêntico ao considerado pela Low-Light Performance Calculator para uma noite de lua cheia (0,27 klx).

Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 6.2 e nos Quadros 6.3, 6.4 e 6.5.

Quadro 6.3 – Resultados do Ensaio em Branco (recurso a radiação solar sem TiO₂)

Amostra	Tempo (h)	Concentração de MC-LR (µg/L)	Remoção (%)	Evolução Remoção (%)
B0	0	0,77		
B1	24	0,79	-	-
B2	48	0,70	9	9
B3	96	0,83	-	-
B4	192	0,75	3	3

Quadro 6.4 – Resultados do Ensaio com TiO₂ e radiação solar

Amostra	Tempo (h)	Concentração de MC-LR (µg/L)	Remoção (%)	Evolução Remoção (%)
T0	0	0,77		
T1	24	0,75	3	3
T2	48	0,66	14	12
T3	96	0,79	-	-
T4	192	0,79	-	-

Quadro 6.5 – Resultados do Ensaio no Escuro (sem radiação e TiO₂)

Amostra	Tempo (h)	Concentração de MC-LR (µg/L)	Remoção (%)	Evolução Remoção (%)
E0	0	0,77		
E1	24	0,75	3	3
E2	48	0,70	9	6
E3	96	0,83	-	-
E4	192	0,70	9	-

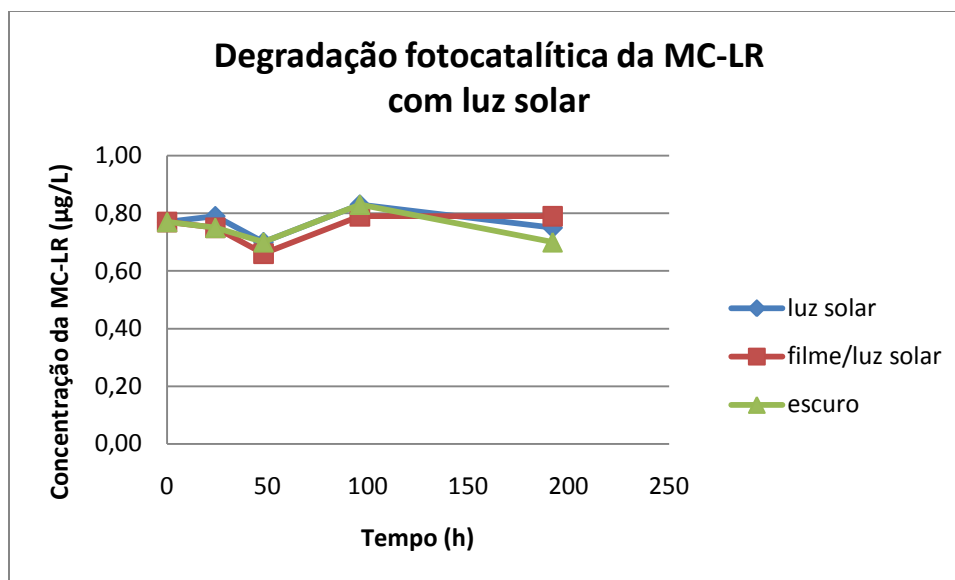


Figura 6.2 – Ensaio de degradação da MC-LR com recurso ao espectro solar

De acordo com a Figura 6.2, verificou-se ausência de degradação da MC-LR em todos os ensaios – com fotocatalizador e na presença ou ausência de radiação. De facto, apenas aproximadamente 3 a 15% da toxina foi removida ao longo de 192h, independentemente da presença do catalizador e/ou de luz.

Os resultados apresentados no Quadro 6.4 e na Figura 6.2 são concordantes com a bibliografia consultada no que concerne à baixa taxa de degradação fotocatalítica da toxina quando se recorre a luz solar e a um filme de TiO_2 não dopado.

Para o filme utilizado neste ensaio, a energia de activação necessária tem de ser superior a 3,33eV, o que corresponde a um comprimento de onda inferior a 388nm. Como tal, qualquer fonte que emita radiação nesse comprimento de onda pode ser usada para promover as reacções catalíticas.

Considerando que o espectro solar se divide em UV-C (200 a 280nm), UV-B (280 a 315nm), UV-A (315 a 400nm) e visível (400 a 700nm), era expectável que a degradação fotocatalítica da MC-LR fosse pouco significativa, uma vez que a região de adsorção do TiO_2 (anatase) corresponde ao UV-A e uma pequena percentagem ao UV-C e UV-B.

É, no entanto, de salientar que a percentagem de remoção obtida, no ensaio de degradação fotocatalítica da MC-LR (TiO_2 e luz solar) ao fim de 48h foi superior às registadas, em igual período, nos ensaios em branco (efeito individual da luz solar) e no escuro. No ensaio de degradação com filme a remoção foi de 14% e nos ensaios em branco e no escuro alcançou-se uma remoção de apenas 9%. Comparativamente com o ensaio no escuro (Quadro 6.5), a

percentagem de evolução da remoção, nesse período de tempo, no ensaio de degradação, duplicou. A evolução de remoção no ensaio no escuro e no ensaio com fotocatalizador foi de 6% e 12%, respectivamente. Esta evolução pode ser explicada pelo facto de uma pequena percentagem do espectro solar corresponder à radiação UV (mais concretamente UV-A) que pode ter sido suficiente para activar o fotocatalizador e consequentemente iniciar as reacções catalíticas.

A microcistina-LR é demasiado estável para ser decomposta por radiação solar natural, a menos que seja irradiada por UV em comprimentos de onda de valor próximo do da adsorção máxima das microcistinas (238nm), o qual pode induzir a fotólise ou a isomerização desta toxina. Portanto, era expectável uma degradação pouco significativa da toxina, como se pode verificar no Quadro 6.3.

Constatou-se ainda que, em todos os ensaios, ocorreu um aumento da concentração da MC-LR nas amostras B3, T3 e E3 correspondentes ao tempo de ensaio de 96h. Este aumento pode, provavelmente, dever-se ao erro associado às técnicas analíticas utilizadas no presente estudo – extracção em fase sólida (SPE) e HPLC.

Um aspecto metodológico importante para a compreensão dos resultados relaciona-se com a reposição da água evaporada durante o tempo de exposição à radiação. Antes de se proceder à recolha de amostras, o volume de água evaporado era repostado de forma a totalizar um volume igual ao existente no período de recolha anterior (dia anterior). Esta reposição da água evaporada possibilita a avaliação da taxa de degradação real da toxina, evitando a diminuição significativa do volume ao longo do tempo de ensaio e a consequente alteração de resultados da degradação.

Tendo em conta que as condições experimentais deste ensaio são idênticas às utilizadas nos ensaios com UV – recipiente de vidro com as mesmas dimensões, pH e volume de solução idênticos e mesmo filme de TiO_2 – é importante salientar que, possivelmente, os parâmetros que influenciaram as baixas taxas de degradação fotocatalítica da toxina nos ensaios com radiação UV também podem ter afectado os resultados deste ensaio.

Os resultados obtidos neste trabalho confirmam que, mesmo com as limitações inerentes à metodologia adoptada, para se rentabilizar a luz solar e tornar este processo numa alternativa económica e ecologicamente viável, é necessário recorrer a catalizadores com resposta alargada à região do visível.

7. Conclusões

Uma das muitas ironias da natureza é a existência de um organismo que tendo contribuído para a presença de vida no planeta acabou por se tornar num problema de saúde pública. As cianobactérias são organismos antigos que biosintetizam uma ampla gama de toxinas potencialmente perigosas que constituem uma ameaça crescente às fontes de água para consumo humano em todo o mundo.

A melhor abordagem a esta ameaça passa pela protecção dos recursos hídricos. Contudo, visto que a sociedade tem de lidar com as alterações climáticas, as espécies invasoras e a carga crescente de nutrientes nos locais de captação, a simples protecção torna-se insuficiente para assegurar a qualidade da água para abastecimento.

Uma vez que os riscos apresentados pelas cianobactérias e pelas suas toxinas são multifacetados, assim também devem ser as abordagens de gestão utilizadas nas estações de tratamento. A optimização dos processos e operações unitárias existentes, bem como a selecção cuidadosa e o planeamento dos sistemas avançados constituem factores essenciais na redução da exposição humana a estas toxinas. A optimização dos processos existentes, devido à sua disponibilidade (infra-estruturas já instaladas) e facilidade de implementação, deve ser prioritária, podendo posteriormente ser reconsiderados novos processos, quer convencionais, quer avançados.

A eficiência de remoção/redução das cianotoxinas durante o tratamento é influenciada por vários factores, sendo o mais importante a proporção entre toxinas intra- e extracelulares. Os mecanismos de remoção de toxinas intracelulares presentes na água afluenta diferem dos requeridos para a eliminação das toxinas extracelulares.

Segundo a bibliografia consultada, a melhor forma de eliminar toxinas é através da remoção física das células intactas de cianobactérias devido à complexidade de remoção das toxinas extracelulares. A coagulação-floculação, decantação e filtração conseguem remover toxinas intracelulares mas são ineficazes nas extracelulares dissolvidas. As estratégias operacionais devem ser desenvolvidas de forma a minimizar a lise celular durante os processos de tratamento, quer na etapa de pré-oxidação, quer durante a remoção de lamas. A decantação, tanto convencional como por FAD, é adequada à remoção de toxinas intracelulares, embora seja necessário avaliar o impacto que a frequência de remoção de lamas tem nos níveis de toxinas durante esta operação. A filtração por areia e através de membranas de baixa pressão também remove as toxinas intracelulares. A filtração por membranas de alta pressão, nomeadamente a nanofiltração e a osmose inversa, mostram potencialidades na separação física das toxinas da água de consumo, mas apresentam como

desvantagens o elevado custo e a complexidade de tratamento das toxinas concentradas na membrana. O carvão activado, sobretudo o CAP, é adequado à resolução de problemas sazonais de cianobactérias. A filtração biológica tem potencial como opção desde que o biofilme tenha tempo suficiente para se adaptar à toxina – uma vez que as cianotoxinas são geralmente um problema sazonal em muitos países, esta opção não parece viável devido à complexidade de manutenção de uma população de microrganismos adaptados, prontos a serem utilizados. A radiação UV é virtualmente inútil contra as cianotoxinas em tratamentos de água.

Os processos de oxidação apresentam-se como os mais promissores na destruição total de toxinas. A cloração oxida a maioria das cianotoxinas, dentro dos intervalos operacionais correntemente aplicados nos sistemas de tratamento. O ozono é capaz de oxidar todos os grupos de toxinas excepto a saxitoxina, contudo este agente apresenta custos elevados se não for possível produzi-lo *in situ* uma vez que a contaminação por toxinas de cianobactérias é sazonal e imprevisível. O recurso ao permanganato de potássio carece de mais pesquisa devido à inconsistência dos resultados obtidos em diversos estudos. Em princípio, a aplicação de oxidantes deve ser realizada após a filtração para minimizar as reacções competitivas com a matéria orgânica e a possibilidade de formação de subprodutos, como os trihalometanos.

As estratégias operacionais devem assegurar que a destruição de toxinas por meio de cloro ou de ozono após o processo de filtração não interfira com o consumo de oxidantes para a redução de microrganismos, no caso de estes produtos estarem a ser utilizados para aquele fim.

A redução de cianotoxinas, assim como de qualquer outro contaminante a ser removido ao longo do processo de tratamento de água para consumo, deve ser abordada sob o ponto de vista de “multi-barreira” (barreiras múltiplas). O planeamento e a coordenação do sistema de tratamento deverá conduzir aos melhores resultados possíveis quando se trata da redução total de cianotoxinas.

Perante um *bloom* de cianobactérias existem algumas medidas imediatas que as ETAs podem tomar para minimizarem a exposição humana às toxinas através da água de consumo (Newcombe & Burch, 2003):

1. Interromper todos os processos de pré-oxidação. Os agentes químicos habitualmente aplicados na pré-oxidação, com doses de oxidante inferiores às necessárias, podem provocar a lise das células de cianobactérias e a libertação de mais toxinas na água.

2. Optimizar a coagulação de forma a remover o maior número possível de células intactas. Este processo irá reduzir a quantidade de toxinas a serem controladas a jusante na linha de tratamento.
3. Isolar as lamas, sobrenadantes da desidratação das lamas e da água de lavagem da ETA. Foi demonstrado que as células de cianobactérias entram em “stress” muito rapidamente sofrendo a lise e a libertando as de toxinas.
4. Optimizar a aplicação de CAP. O tipo de carvão deve variar em função das cianotoxinas presentes e a dosagem deve variar em função da matéria orgânica existente na água afluente à ETA.
5. Não basear o tratamento na aplicação isolada do CAG, pois este pode ter uma durabilidade de acção baixa durante os *blooms* de cianobactérias.
6. Optimizar as doses de ozono e cloro após a filtração, de forma a manter uma concentração residual com um tempo de contacto adequado (consoante as toxinas presentes).

Relativamente aos processos oxidativos avançados (POAs), é necessário realizar mais pesquisa para se avaliar a aplicabilidade na redução de cianotoxinas, sendo muitos destes ainda impraticáveis em operações de larga escala (ETAs).

A degradação fotocatalítica por meio de UV/TiO₂ é uma tecnologia promissora que apresenta características atractivas sob o ponto de vista ambiental combinadas com uma elevada eficiência de degradação de contaminantes orgânicos que permite a sua mineralização parcial ou completa.

De forma a contornar as desvantagens provenientes da aplicação directa do TiO₂ em nanopartículas na solução e o posterior tratamento adicional para a sua remoção, alguns investigadores têm optado pela utilização de TiO₂ imobilizado em diversos materiais, principalmente em materiais inertes, como o vidro.

Nesta dissertação procurou-se estudar o efeito, à escala laboratorial, que o TiO₂ imobilizado em vidro irradiado com radiação UV e luz solar (incluí radiação visível e UV) exerce na degradação da microcistina-LR. São diversos os factores que influenciam este processo, sendo imperativo a sua optimização para a obtenção de elevadas taxas de oxidação destes poluentes recalcitrantes.

Os resultados obtidos mostraram uma degradação pouco significativa, tanto com recurso à radiação UV como à luz solar.

No primeiro caso, estes resultantes contrastaram com os referenciados na bibliografia consultada devido à ocorrência de diversos problemas durante a realização dos ensaios e à impossibilidade de melhorar as condições experimentais, isto é, alterar a fonte de iluminação utilizada, variar a concentração inicial de toxinas, controlar o pH da solução e alterar o volume de solução.

Na realidade, devido ao limitado tempo de que se dispõe para a realização de dissertações como esta, não foi possível testar a alteração de variáveis fundamentais ao processo. Face ao exposto, recomenda-se para futuros ensaios de degradação com radiação UV, o estudo da influência dos seguintes parâmetros:

- Características dos filmes finos, nomeadamente da porosidade, espessura e área superficial;
- Concentração inicial de MC-LR;
- Tempo de exposição à irradiação;
- Tempo e efeito da adsorção das toxinas à superfície catalizador no escuro.

Relativamente ao ensaio de degradação da MC-LR com recurso à luz solar, os resultados obtidos são concordantes com os da bibliografia citada, podendo este facto estar relacionado com o comprimento de onda da fonte de iluminação utilizada. Considerando que somente a energia incidente na faixa de UV é significativa para a activação do catalizador, quando se recorre ao espectro solar somente uma porção pequena desta é adequada para que se inicie o processo. Para contornar esta desvantagem, pode-se recorrer a catalizadores com resposta alargada à região do visível, como por exemplo, catalizadores de TiO_2 dopados com azoto.

8. Perspectivas Futuras

A natureza interdisciplinar desta área de investigação (engenharia do ambiente, química, biologia, espectrometria de massa, tecnologia, nanotecnologia e engenharia de materiais) permite o desenvolvimento das pesquisas em diversas direcções.

Seguidamente encontra-se uma breve lista das perspectivas futuras nesta área científica:

- Outras cianotoxinas: as microcistinas, especialmente a -LR, têm sido as mais citadas na literatura. No entanto, existem muitos outros grupos de toxinas conhecidas por causar danos nos ecossistemas e constituírem uma ameaça à saúde pública que necessitam de tratamento apropriado, entre elas encontram-se as nodularinas e a cylindrospermopsina (que também exibem comportamento hepatotóxico) e as neurotoxinas, como as saxitoxinas.
- Estudos acerca dos produtos intermédios: a identificação dos produtos intermédios e das vias de degradação das cianotoxinas pelos radicais hidroxilo podem fornecer informações importantes acerca da selectividade dos radicais para cada grupo de toxinas e dos locais preferenciais de ataque e contribuir para a optimização das condições de tratamento. Os produtos intermédios também podem ser utilizados como marcadores de eventos de contaminação.
- Cinética competitiva e estudos de toxicidade: Uma estirpe de cianobacterias pode produzir mais de doze cianotoxinas diferentes. Por isso, é importante testar as cinéticas competitivas entre os diferentes derivados do mesmo grupo e de diferentes grupos de cianotoxinas e avaliar a eficiência dos POAs baseados em radicais hidroxilo (OH^\bullet) e sulfato ($\text{SO}_4^{2-\bullet}$). Alguns investigadores consideram que uma mistura de cianotoxinas tem um efeito sinérgico na toxicidade comparado com concentrações iguais de toxinas individuais. Portanto, a remoção de toxicidade é um factor muito importante que necessita de ser monitorizado durante o tratamento,
- Testes em águas naturais: A maioria dos estudos recorre a água sintética para monitorizarem os efeitos de cada um dos parâmetros separadamente. Seria de grande interesse a utilização de amostras de água proveniente de diferentes locais de uma estação de tratamento contaminadas com cianotoxinas, e avaliar a eficiência do fotocatalizador TiO_2 . É expectável que a presença de matéria orgânica e de iões que capturam os radicais OH^\bullet , como os carbonatos, alterem as eficiências de degradação.

- Fontes renováveis de activação de catalizadores: Devido às recentes preocupações com a toxicidade de nanopartículas que não sejam devidamente removidas da água, tem-se desenvolvido um interesse na produção de fotocatalizadores de TiO_2 dopados com azoto (com resposta na região do visível) e imobilizados.

Referências Bibliográficas

- Al-Ekabi, H. & Serpone, N. (1993). TiO₂ advanced photo-oxidation technology: effect of electron acceptors. In Lasa, H.; Serrano, B.; Salaices, M. (2005). *Photocatalytic Reaction Engineering*. USA: Springer Science. pp. 1-4
- Akyol, A. & Bayamoglu, M. (2005). Photocatalytic degradation of Remazol Red F3B using ZnO catalyst. In K. Santos, S. (2007). *Processo Fotocatalítico Acoplado à Microfiltração para Degradação de Poluentes Orgânicos Recalcitrantes*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Akyol, A.; Yatmaz, H.C.; Bayramoglu, M. (2004). Photocatalytic decolorization of Remazol Red RR in aqueous ZnO suspensions. In K. Santos, S. (2007). *Processo Fotocatalítico Acoplado à Microfiltração para Degradação de Poluentes Orgânicos Recalcitrantes*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Al-Rasheed; R. A. (2005). *Water Treatment by Heterogeneous Photocatalysis an Overview*. Jeddah: Saline Water Conversion Corporation Acquired Experience Symposium.
- Alves, C. (2007). *Tratamento de Águas de Abastecimento*. 2ª Edição. Porto: Publindústria. pp 42, 123, 146, 244, 254-257.
- Andrade, M.S.B (2007). *Avaliação de efeitos citotóxicos, morfológicos e ultraestruturais de microcistinas em células Vero*. Tese de Mestrado. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.
- Andreozii, R.; Caprio, V.; Insola, A.; Marotta, R. (2000). Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. In Vilela, W.F.D. (2009). *Estudo da Degradação da [D-Leu]-Microcistina-LR por Fotocatálise Heterogênea Solar*. Dissertação de Mestrado. Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo.
- Anipsitakis, G.P. & Diounysiou, D.D. (2003). Degradation of organic contaminants in water with sulfate radicals generated by the conjunction of peroxymonosulfate with cobalt. In Antoniou, M. G. (2010). *Mechanistic Studies on the Degradation of Cyanobacterial Toxins and other Nitrogen Containing Compounds with Hydroxyl and Sulfate Radical based Advanced Oxidation Technologies*. Dissertação de Doutorado. University of Cincinnati.
- Antoniou, M. G. (2010). *Mechanistic Studies on the Degradation of Cyanobacterial Toxins and other Nitrogen Containing Compounds with Hydroxyl and Sulfate Radical based Advanced Oxidation Technologies*. Dissertação de Doutorado. University of Cincinnati.

Antoniou, M. G.; Persoulla, N.A; Shoemaker, J. A.; De La Cruz, A. A; Diounysiou, D. D. (2009). Impact of the morphological properties of thin TiO₂ photocatalytic films on the detoxification of water contaminated with the cyanon, microcystin-LR. *Applied Catalysis B: Environmental*, **91**, 165-173.

Antoniou, M. G.; Shoemaker, J. A.; De La Cruz, A. A; Diounysiou, D. D. (2008a). LC/MS/MS structure elucidation of reaction intermediates formed during the TiO₂ photocatalysis of microcystin-LR. *Toxicon*, **51**, 1103-1118

Antoniou, M. G.; Shoemaker, J. A.; De La Cruz, A. A; Diounysiou, D. D. (2008b). Unveiling New Degradation Intermediates/Pathways from Photocatalytic Degradation of Microcystin-LR. *Environmental Science & Technology*, **42**, 8877-8883.

Bae, E. & Choi, W. (2003). Highly enhanced photoreductive degradation of perchlorinated compound on dye-sensitized metal/TiO₂ under visible light. In Choi, H.; Antoniou, M. G.; Palaez, M.; De La Cruz, A. A.; Shoemaker, J. A.; Diounysiou, D. D. (2007). Mesoporous Nitrogen-Doped TiO₂ for Photocatalytic Destruction of the Cynobacterial Toxin under Visible Light Irradiation. *Environmental Science & Technology*, **41**, 7530-7535.

Bagu, J.R.; Sonnichsen, F.D.; Williams, D.; Andersen, R.J.; Sykes, B.D.; Holmes, C.F.B. (1995). Comparison of the solution structures of microcystin-LR and motuporin. *Nature Structural & Molecular Biology*, **2**, 114–116.

Bahnemann, D. W. (1994). Solare Abwasserentgiftung. Nachrichten aus Chemie, Technik und Laboratorium **42**, 378-388. In Graham, D.; Krish, H.; Lawton, L. A.; Robertson, P. K.J. (2010). The degradation of microcystin-LR using doped visible light absorbing photocatalysts. *Chemosphere*, **78**, 1182-1185.

Bahnemann, D. W. (2004). Photocatalytic water treatment: solar energy applications. *Solar Energy*, **77**, 445-459. In Graham, D.; Krish, H.; Lawton, L. A.; Robertson, P. K.J. (2010). The degradation of microcystin-LR using doped visible light absorbing photocatalysts. *Chemosphere*, **78**, 1182-1185.

Baker, P.D.; Steffensen, D.A.; Humpage, A.R.; Nicholson, B.C.;Falconer, I.R.; Lanthois, B.; Fergusson, K.M. e Saint, C.P. (2001). Preliminary evidence of toxicity associated with the benthic cyanobacterium *Phormidium* in South Australia. *Environmental Toxicology*, **16**, 506–511.

Bandala, E.R.; Martínez, D.; Martínez, E.; Diounysiou, D.D. (2004). Degradation of microcystin-LR toxin by Fenton and Photo-Fenton processes. *Toxicon*, **43**, 829-832.

Bard, C. (2004). *Química Ambiental*. In Vilela, W.F.D. (2009). *Estudo da Degradação da [D-Leu]-Microcistina-LR por Fotocatálise Heterogênea Solar*. Dissertação de Mestrado. Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo.

Bernhardt, H. & Clasen, J.(1994). Investigations in to flocculation mechanisms of small algal cells. *AQUA*, **43**, 222–232.

Bernhardt, H. & Clasen, J.(1991). Flocculation of micro-organisms. *AQUA*, **40**, 76–87.

Best, J.H.; Pflugmacher, S.; Wiegand, C.; Eddy, F.B.; Metcalf, J.S. e Codd, G.A. (2002). Effects of enteric bacterial and cyanobacterial lipopolysaccharides, and of microcystin-LR, on glutathione S-transferase activities in zebra fish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology*. **60**, 223–231.

Bhatkhande, D.S.; Pangarkar, V.G., Beenackers, A.A.C.M. (2001). Photocatalytic degradation for environmental applications – a review. In Al-Rasheed; R. A. (2005). *Water Treatment by Heterogeneous Photocatalysis an Overview*. Jeddah: Saline Water Conversion Corporation Acquired Experience Symposium.

Bober, B.; Pudas, K.; Lechowski, Z.; Bialczyk, J. (2008). Degradation of microcystin-LR by ozone in the presence of Fenton reagent. *Journal of Environmental Science and Health*, **43** 186-190

Boer, K.W. (1990). Survey of Semiconductor Physics. In Chen, D.; Sivakumer, M.; Ray, A. K. (2000). Heterogeneous Photocatalysis in Environmental Remediation. *Chemical Engineering and Mineral Processing*, **8**, 505-550.

Bolton, J.R. (1999). Ultraviolet application handbook. In Svrcek, C. e Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185

Bourne, D.G.; Jones, G.J.; Blakeley, R.L.; Jones, A.; Negri, A.P.; Riddles, P. (1996). Enzymatic pathway for the bacterial degradation of the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin LR. *Applied and Environmental Microbiology*, **62**, 4086–4094.

Brookes, J.; Lewis, D.; Linden, L. (2002). Detecting, predicting, and managing cyanobacteria in sourcewater. In Svrcek, C. & Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185

Bruchet, A.; Bernazeau, F.; Baudin, I.; Pieronne, P. (1998). Algal toxins in surfacewater: analysis and treatment. *Water Supply*, **16**, 619–623.

Campinas, M.; Ribeiro Teixeira, M.; Lucas, H.; Rosa, M.J. (2002). *Previsão da capacidade de remoção de cianobactérias e cianotoxinas na ETA de Alcantarilha*. Actas do 10º Encontro Nacional de Saneamento Básico. Associação Portuguesa de Saneamento Básico. Universidade do Minho.

Carmichael, W.W. (1992a). A status report on planktonic cyanobacteria (blue-green algae) and their toxins – summary report. In Svrcek, C. & Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185.

Carmichael, W.W. (1992b). Cyanobacterial secondary metabolites—the cyanotoxins. *Journal of Applied Bacteriology*, **72**, 445–459.

Carmichael, W.W. (1997). The cyanotoxins. In Svrcek, C. & Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185.

Carmichael, W.W. (2001). Health effects of toxin-producing cyanobacteria: the CyanoHABs. *Human and Ecological Risk Assessment*, **7**, 1393–1407.

Carmichael, W.W.; Azevedo, S.M.F.O.; An, J.; Molica, R.J.R.; Jochimsen, E.M.; Lau, S.; Rinehart, K.L.; Shaw, G.R. e Eaglesham, G.K. (2001). Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. *Environmental Health Perspective*, **109**, 663–668.

Carmichael, W.W.; Evans, W.R.; Yin, Q.Q.; Bell, P.; Moczydlowski, E. (1997). Evidence for paralytic shellfish poisons in the freshwater cyanobacterium *Lyngbya wollei* (Farlow ex Gomont) comb. nov. *Applied Environmental Microbiology*, **63**, 3104–3110.

Cassano, A. & Alfano, O. (2000) Reaction engineering of suspended solid heterogeneous photocatalytic reactors. In Vilela, W.F.D. (2009). *Estudo da Degradação da [D-Leu]-Microcistina-LR por Fotocatálise Heterogênea Solar*. Dissertação de Mestrado. Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo.

Cassano, A.; Martin, C.; Brandi, R.; Alfano, O. (1995) Photoreactor analysis and design: Fundamentals and applications. In Lasa, H.; Serrano, B.; Salas, M. (2005). *Photocatalytic Reaction Engineering*. USA: Springer Science. pp. 16 e 17

Chen, D.; Sivakumar, M.; Ray, A. K. (2000). Heterogeneous Photocatalysis in Environmental Remediation. *Chemical Engineering and Mineral Processing*, **8**, 505-550

- Chiou, C.; Wu, C.; Juang, R. Influence of operating parameters on photocatalytic degradation of phenol in UV/TiO₂ process. In Fernandes, I.M.D. (2009). *Aplicação de compósitos de TiO₂ em carvão ativado na fotodegradação do fenol com luz ultravioleta*. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa.
- Chiswell, R.K.; Shaw, G.R.; Eaglesham, G.; Smith, M.J.; Norris, R.L.; Seawright, A.A. e Moore, M.R. (1999). Stability of cylindrospermopsin, the toxin from the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii*: effect of pH, temperature, and sunlight on decomposition. *Environmental Toxicology*, **14**, 155–161.
- Choi, H. (2007). *Novel Preparation of Nanostructured Titanium Dioxide Photocatalytic Particles, Films, Membranes and Devices for Environmental Applications*. Dissertação de Doutoramento. University of Cincinnati.
- Choi, H.; Antoniou, M. G.; De La Cruz, A. A.; Stathatos, E.; Diounysiou, D. D. (2007a). Photocatalytic TiO₂ films and membranes for the development of efficient wastewater treatment and reuse systems. *Desalination*, **202**, 199-206.
- Choi, H.; Antoniou, M. G.; Palaez, M.; De La Cruz, A. A.; Shoemaker, J. A.; Diounysiou, D. D. (2007b). Mesoporous Nitrogen-Doped TiO₂ for Photocatalytic Destruction of the Cyanobacterial Toxin under Visible Light Irradiation. *Environmental Science & Technology*, **41**, 7530-7535.
- Choi, H.; Stathatos, E.; Diounysiou, D. D. (2006a). Sol-gel preparation of mesoporous photocatalytic TiO₂ films and TiO₂/Al₂O₃ composite membranes for environmental applications. *Applied Catalysis B: Environmental*, **63**, 60-67.
- Choi, H.; Stathatos, E.; Diounysiou, D. D. (2006b). Synthesis of nanocrystalline photocatalytic TiO₂ thin films and particles using sol-gel method modified with nonionic surfactants. *Thin Solid Films*, **510**, 107-114.
- Chorus, I. & Bartram, J. (1999). *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring, and management*. New York: E & FN Spon.
- Chorus, I. (2000). *Cyanotoxins. Occurrence, causes and consequences*. In Andrade, M.S.B (2007). *Avaliação de efeitos citotóxicos, morfológicos e ultraestruturais de microcistinas em células Vero*. Tese de Mestrado. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.
- Christoffersen, K.; Lyck, S.; Winding, A. (2002). Microbial activity and bacterial community structure during degradation of microcystins. *Aquatic Microbial Ecology*, **27**, 125–136.

Codd, G.A. (2000). Cyanobacterial toxins, the perception of water quality, and the prioritisation of eutrophication control. *Ecological Engineering*, **16**, 51–60.

Codd, G.A.; Bell, S.G.; Kaya, K.; Ward, C.J.; Beattie, K.A.; Metcalf, J.S. (1999). Cyanobacterial toxins, exposure routes and human health. *European Journal Phycology*, **34**, 405–415.

Coelho, P. (2009). *Modelação Matemática da Qualidade da água em Sistemas albufeira-rio*. Dissertação de Doutoramento. Faculdade de Ciências e Tecnologia. Universidade Nova de Lisboa

Cook, D. & Newcombe, G. (2002). Removal of microcystin variants with powdered activated carbon. *Water Science and Technology: Water Supply*, **2**, 201–207.

Cornish, B., Lawton, L.; Robertson, P. (2000). Hydrogen peroxide enhanced photocatalytic oxidation of microcystin-LR using titanium dioxide. *Applied Catalysis B: Environmental*, **25**, 59–67.

Cousins, I.T.; Bealing, D.J.; James, H.A. e Sutton, A. (1996). Biodegradation of microcystin-LR by indigenous mixed bacterial populations. *Water Research*, **30**, 481–485.

De Maagd, P.; Hendriks, A.; Seinen, W.; Sijm, D. (1999). pH dependent hydrophobicity of the cyanobacteria toxin microcystin- LR. *Water Research*, **33**, 677–680.

Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto – Qualidade da água para consumo humano.

Dijkstra, M.; Buwalda, H.; De Jong, A.; Michorius, A.; Winkelman, J.; Beenackers, A. (2001) Experimental comparison of three reactor designs for photocatalytic water purification. In Vilela, W.F.D. (2009). *Estudo da Degradação da [D-Leu]-Microcistina-LR por Fotocatálise Heterogênea Solar*. Dissertação de Mestrado. Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo.

Donati, C.; Drikas, M.; Hayes, R.; Newcombe, G. (1994). Microcystin-LR adsorption by powdered activated carbon. *Water Research*, **29**, 1735–1742.

Draper, B. & Fox, M. A. (1990). Titanium dioxide photosensitized reactions studied by diffuse reflectance flash photolysis in aqueous suspensions of TiO₂ powder. In Lasa, H.; Serrano, B.; Salaices, M. (2005). *Photocatalytic Reaction Engineering*. USA: Springer Science. pp. 1-4

Drikas, M.; Chow, C.W.K.; House, J.; Burch, M.D. (2001a). Using coagulation, flocculation, and settling to removal toxic cyanobacteria. *American Water Works Association Journal*, **93**, 100–111.

- Drikas, M.; Newcombe, G.; Nicholson, B.C. (2001*b*). Water treatment options for cyanobacteria and their toxins. In Svrcek, C. & Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185
- Duy, T. N.; Lam, P. K. S.; Shaw, G.; Connell, D. W. (2000). Toxicology and risk assessment of freshwater cyanobacterial (Blue-green algal) toxins in water. *Reviews of Environmental Contamination & Toxicology*, **163**, 113-185.
- Edwards, C.; Beattie, K.A.; Scrimgeour, C.M.; Codd, G.A. (1992). Identification of anatoxin-a in benthic cyanobacteria (blue-green algae) and in associated dog poisonings at Loch Insh, Scotland. *Toxicon*, **30**, 1165–1175.
- Falconer, I.R. (2005). *Cyanobacterial Toxins of Drinking Water Supplies. Cylindrospermopsins and Microcystins*. New York: CRC Press. 236 pp.
- Fawell, J.; Hart, J.; James, H.; Parr, W. (1993). Blue-green algae and their toxins: analysis, toxicity, treatment, and environmental control. In Svrcek, C. & Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185.
- Feitz, A. J. & Waite, D. T. (2003). Kinetic modeling of TiO₂-Catalyzed photodegradation of trace levels of Microcystin-LR. *Environmental Science and Technology*, **37**, 561-568.
- Feitz, A. J.; Waite, D. T.; Jones, G. J.; Boyden, B. H.; Orr, P. T. (1999). Photocatalytic degradation of the blue green algal toxin microcystin-LR in a natural organic-aqueous matrix. *Environmental Science & Technology*, **33**, 243-249.
- Feng, X. Rong, F.; Fu, D., Yuan C.; Hu, Y. (2005). Photocatalytic degradation of trace-level of Microcystin-LR by nano-film of titanium dioxide. *Chinese Science Bulletin*, **51**, 1191-1198.
- Fernandes, M. S. (2010). *Estudo das propriedades ópticas de filmes finos de dióxido de titânio e de dióxido de titânio dopado com azoto. Relatório da actividade desenvolvida no âmbito da bolsa de integração na investigação (BII/CEFITEC/Linha2-3/2009)*. FCT-UNL. Monte da Caparica.
- FNSASA – Fundação Nacional da Saúde: Setor de Autarquias Sul. (2003). *Cianobactérias Tóxicas na Água para Consumo Humano na Saúde Pública e Processos de Remoção em Água para Consumo Humano*. Ministério da Saúde do Brasil. Brasília pp. 23-38.
- Fox, M. A. & Dulay, M.T. (1993). Heterogeneous photocatalysis. *Chemical Reviews*, **93**, 341-357.

Francis, G. (1878). Poisonous Australian Lake. *Nature*. In Svrcek, C. e Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185

Freitas, A.M. (2008). *Utilização de Processos Oxidativos Avançados para Remediação de Águas Contaminadas por Toxinas Produzidas por Cianobactérias*. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná. Curitiba.

G. Santos, S.V. (2009). *Análise superficial em AFM de filmes finos com gradiente de composição em profundidade obtidos por codeposição catódica*. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Gajdek, P.; Lechowski, Z.; Bochnia, T.; Kepczynski, M. (2001). Decomposition of microcystin-LR by Fenton oxidation. *Toxicon*, **39**, 1575-1578.

Gálvez, J.B.; Rodríguez, S.M., Gasca, C.A.E.; Bandala, E.R.; Gelover, S.; Leal, T. (2001). Purificación de aguas por fotocátalisis heterogénea: estado del arte. In Teixeira, C.A.B. & Jardim, W.F. (2004). *Caderno Temático Volume 03. Processos Oxidativos Avançados. Conceitos teóricos*. Campinas: UNICAMP

Galvin, R.M. & Mellado, J.M.R. (1998). Potassium permanganate as pre-oxidant in a reverse osmosis water plant. *Water SA*, **24**, 361–363.

Gogate, P.R.; Mujumdar, S.; Pandit, A.B. (2002). A sonophotochemical reactor for the removal of formic acid from wastewater. In Vilela, W.F.D. (2009). *Estudo da Degradação da [D-Leu]-Microcistina-LR por Fotocatálise Heterogênea Solar*. Dissertação de Mestrado. Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo.

Goldberg, J.; Hsien-bin, H.; Young-guen, K.; Greengard, P.; Nairn, A.C.; Kuriyan, J. (1995). Three-dimensional structure of the catalytic subunit of protein serine/threonine phosphatase-1. *Nature*, **376**, 745–753.

Graham, D.; Krish, H.; Lawton, L. A.; Robertson, P. K.J. (2010). The degradation of microcystin-LR using doped visible light absorbing photocatalysts. *Chemosphere*, **78**, 1182-1185.

Grützmacher, G.; Böttcher, G.; Chorus, I.; Bartel, H. (2002). Removal of microcystins by slow sand filtration. *Environmental Toxicology*, **17**, 386–394.

Hack, H. & Paz, Y. (2003). Long-range effects of noble metals on photocatalytic properties of titanium dioxide. In Antoniou, M. G.; Shoemaker, J. A.; De La Cruz, A. A; Diounysiou, D. D.

(2008a). LC/MS/MS structure elucidation of reaction intermediates formed during the TiO₂ photocatalysis of microcystin-LR. *Toxicon*, **51**, 1103-1118.

Harada, K. & Tsuji, K. (1998). Persistence and decomposition of hepatotoxic microcystins produced by cyanobacteria in natural environment. *Journal Toxicology-Toxin Reviews*, **17**, 385–403.

Harrington, G. (2002). US EPA study: the effectiveness of chlorine for microcystin-LR and anatoxin-a. In Svrcek, C. & Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185

Hart, J.; Fawell, J.; Croll, B. (1998). The fate of both intra- and extracellular toxins during drinking water treatment. *Water Supply*, **16**, 611–616.

He, J.A.; Hu, T.Z.; Jiang, L.J. (1997). Photodynamic action of phycobiliproteins: in situ generation of reactive oxygen species. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1320**, 165–174.

Health Canada. (2002). Cyanobacterial toxins — microcystin-LR. In Svrcek, C. & Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185

Hendricks, D. (1991). Manual of design for slowsand filtration. In Svrcek, C. e Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185

Himberg, K.; Keijola, A.; Hiisvirta, L.; Pyysalo, H.; Sivonen, K. (1989). The effect of water treatment processes on the removal of hepatotoxins from *Microcystis* and *Oscillatoria* cyanobacteria: a laboratory study. *Water Research*. **23**, 979–984.

Hitzfeld, B.C.; Höger, S.J.; Dietrich, D.R. (2000). Cyanobacterial toxins: removal during drinking water treatment and human risk assessment. *Environmental Health Perspectives Supplements*, **108**, 113-122.

Hoeger, S.J.; Hitzfeld, B.C.; Dietrich, D.R. (2001). Efficacy of different methods in the removal of cyanobacterial toxins in drinking water treatment and toxicity of by-products after ozonation of microcystin-LR. In Svrcek, C. & Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185

Hoffman, J.R.H. (1976). Removal of *Microcystis* toxins in water purification processes. In Svrcek, C. e Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185.

Hoffmann, M.R.; Martin, S. T.; Choi, W.; Bahnmann, D.W. (1995). Environmental applications of semiconductor photocatalysis. *Chemical Reviews*, **95**, 69-96.

Hofstadler, K.; Bauer, R.; Novalic, S.; Heisler, G. New reactor design for photocatalytic water-treatment with TiO₂ immobilized on fused-silica glass- fibers-photomineralization of 4-chlorophenol. In Vilela, W.F.D. (2009). *Estudo da Degradação da [D-Leu]-Microcistina-LR por Fotocatálise Heterogênea Solar*. Dissertação apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Ciências. São Carlos.

Crudey, S.; Burch, M.D.; Drikas, M.; Gregory, R. (1999). Remedial measures. In Chorus, I. & Bartram, J. (1999). *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring, and management*. New York: E & FN Spon pp. 275–312.

Huang, C.; Dong, C.; Tang, Z. (1993). Advanced chemical oxidation: its present role and potential future in hazardous waste treatment. *Waste Management*, **13**, 361-377

Huang, Y.; Chen, C.; Huang, G.; Chou, S.S. (2001). Comparison of a novel electro-fenton method with fenton's reagent in treating highly contaminated wastewater. *Water Science and Technology*, **43**, 17-24.

Humpage, A.R.; Fenech, M.; Thomas, P.; Falconer, I.R. (2000). Micronucleus induction and chromosome loss in transformed human white cells indicate clastogenic and aneugenic action of the cyanobacterial toxin, cylindrospermopsin. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, **472**, 155–161.

Ijpelaar, G.F.; Meijers, R.T.; Hopman, R.; Kruithof, J.C. (2000). Oxidation of herbicides in groundwater by the Fenton process: A realistic alternative for O₃/H₂O₂ treatment? *Ozone Science & Engineering*, **22**, 607–616.

Jones, G.J. & Orr, P.T. (1994). Release and degradation of microcystin following algicide treatment of a *Microcystis aeruginosa* bloom in a recreational lake, as determined by HPLC and protein phosphatase inhibition assay. In Antoniou, M. G.; Persoulla, N.A; Shoemaker, J. A.; De La Cruz, A. A; Diounysiou, D. D. (2009). Impact of the morphological properties of thin TiO₂ photocatalytic films on the detoxification of water contaminated with the cyanobacterium, microcystin-LR. *Applied Catalysis B: Environmental*, **91**, 165-173.

- Jones, G.J.; Bourne, D.G.; Blakeley, R.L.; Doelle, H. (1994). Degradation of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by aquatic bacteria. *Natural Toxins*, **2**, 228–235.
- Jones, G.J.; Falconer, I.R.; Wilkins, R.M. (1995). Persistence of cyclic peptide toxins in dried *Microcystin aeruginosa* crusts from Lake Mokoan, Australia. *Environmental Toxicology and Water Quality*, **10**, 19–24.
- Karner, D.; Standridge, J.; Harrington, G.; Barnum, R. (2001). Microcystin algal toxins in source and finished drinking water. *American Water Works Association. Journal*, **93**, 72–81.
- Kaya, K. & Sano, T. (1998). A photodetoxification mechanism of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin-LR by ultraviolet irradiation. *Chemical Research Toxicology*, **11**, 159–163.
- Keevil, C. W. (1991). Toxicology and detection of cyanobacterial (blue-green algae) toxins. In Fernandes, S.S. (2008). *Biodisponibilidade de Cianotoxinas em Bivalves*. Tese de Mestrado. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.
- Keijola, A.; Himberg, K.; Esala, A.; Sivonen, K.; Kiisvirata, L. (1988). Removal of cyanobacterial toxins in water treatment processes: laboratory and pilot plant experiments. *Toxicity Assessment*, **3**, 643–656
- Kruithof, J.C.; Kamp, P.C.; Belosevic, M. (2002). UV/H₂O₂ - treatment: the ultimate solution for pesticide control and disinfection. *Water Science and Technology: Water Supply*, **2**, 113–122.
- Lahti, K.; Rapala, J.; Fardag, M.; Maija, N.; Sivonen, K. (1997). Persistence of cyanobacterial hepatotoxin, microcystin-LR, in particulate material and dissolved in lake water. *Water Research*, **31**, 1005–1012.
- Lahti, K.; Rapala, J.; Kivimaki, A.L.; Kukkonen, J.; Niemela, M.; Sivonen, K. (2001). Occurrence of microcystins in raw water sources and treated drinking water of Finnish waterworks. *Water Science and Technology*, **43**, 225–228.
- Lam, A.; Prepas, E.E.; Spink, D.; Hrudey, S.E. (1995a). Control of hepatotoxic phytoplankton blooms—implications for human health. *Water Research*, **29**, 1845–1854.
- Lam, A.K.Y., Fedorak, P.M., and Prepas, E.E. 1995b. Biotransformation of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin-LR, as determined by HPLC and protein phosphatase bioassay. *Environmental Science and Technology*, **29**, 242–246.
- Lambert, T.; Holmes, C.; Hrudey, S. (1996). Adsorption of microcystin-LR by activated carbon and removal in full scale water treatment. *Water Research*, **30**, 1411–1422.

- Lanaras, T.; Cook, C.M.; Eriksson, J.E.; Meriluoto, J.A.O.; Hotokka, M. (1991). Computer modelling of the 3-dimensional structures of cyanobacterial hepatotoxins microcystin-LR and nodularin. *Toxicon*, **29**, 901–906.
- Lasa, H.; Serrano, B.; Salaices, M. (2005). *Photocatalytic Reaction Engineering*. USA: Springer Science. pp. 1-4 e 16, 17
- Lawton, L. A. & Robertson, P.K.J. (1999). Psysico-chemical treatment methods for the removal of microcystins (cyanobacterial hepatotoxins) from potable waters. *Chemical Society Reviews*, **28**, 217-224.
- Lawton, L. A.; Robertson, P.K.J.; Cornish, B.J.P.A.; Jaspars, M. (1999). Detoxification of Microcystins (Cyanobacterial Hepatotoxins) Using TiO₂ Photocatalytic Oxidation. *Environmental Science & Technology*, **33**, 771-775.
- Lee, D.; Kim, S.; Kim, S.; Chung, I.; Kim, S. (2004). Photocatalytic oxidation of microcystin-LR with TiO₂-coated activated carbon. *Chemical Engineering Journal*, **102**, 93-98.
- Lee, T.J.; Nakano, K.; Matsumura, M. (2002). A novel strategy for cyanobacterial bloom control by ultrasonic irradiation. *Water Science and Technology*, **46**, 207–215.
- Letterman, R. (1999). Water quality and treatment: a handbook of community water supplies. In Svrcek, C. & Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185
- Liang, W.; Qu, J.H.; Wang, K.; Wang, J.; Liu, H.; Lei, P.J. (2008). Electrochemical Degradation of Cyanobacterial Toxin Microcystin-LR Using Ti/RuO₂ Electrodes in a Continuous Tubular Reactor. *Environmental Engineering Science*, **25**, 635-642.
- Lin, Y. M.; Tseng, Y.H.; Huang, J.H.; Chao, C. C.; Chen, C.C.; Wang, I. (2006). Photocatalytic activity for degradation of nitrogen oxides over visible light responsive titania-based photocatalysts. In Choi, H.; Antoniou, M. G.; Palaez, M.; De La Cruz, A. A.; Shoemaker, J. A.; Diounysiou, D. D. (2007). Mesoporous Nitrogen-Doped TiO₂ for Photocatalytic Destruction of the Cynobacterial Toxin under Visible Light Irradiation. *Environmental Science & Technology*, **41**, 7530-7535.
- Liu, I.; Lawton, L. A. e Robertson, P.K.J. (2003). Mechanistic Studies of the photocatalytic Oxidation of Microcystin-LR: An Investigation of Byproducts of the Decomposition Process. *Environmental Science & Technology*, **37**, 3214-3219.

Liu, I.; Lawton, L.; Bahnemann, D.; Liu, L.; Proft, B. Robertson, P. (2009). The photocatalytic decomposition of microcystin-LR using selected titanium dioxide materials. *Chemosphere*, **76**, 549-553.

Long, T.C.; Saleh, N.; Tilton, R.D.; Lowry, G.V., Wolbert, D. (2006) Titanium Dioxide (P25) Produces Reactive Oxygen Species in Immortalized Brain Microglia (BV2): Implications for Nanoparticle Neurotoxicity. In Antoniou, M. G.; Persoulla, N.A; Shoemaker, J. A.; De La Cruz, A. A; Diounysiou, D. D. (2009). Impact of the morphological properties of thin TiO₂ photocatalytic films on the detoxification of water contaminated with the cyanon, microcystin-LR. *Applied Catalysis B: Environmental*, **91**, 165-173.

Low-Light Performance Calculator. For Fixed & Variable Power Scopes. Consultado em Dezembro de 2010: <http://www.scopecalc.com/>

Machado A.E.H.; Mirnda, J.A.; De Freitas, R.F.; Duarte, E.T.F.M.; Ferreira, L.F.; Albuquerque, Y.D.; Ruggiero, R.; Sattler, C.; De Oliveira, L. (2003). Destruction of the organic matter present in effluent from a cellulose and paper industry using photocatalysis. In Vilela, W.F.D. (2009). *Estudo da Degradação da [D-Leu]-Microcistina-LR por Fotocatálise Heterogênea Solar*. Dissertação de Mestrado. Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo.

Mano, A.P. (2005). Pré-Oxidação – Carvão Activado. Apontamentos da cadeira de Sistemas de Tratamento de Água e de Efluentes. DCEA. FCT-UNL.

Meriluoto, J & Codd, G.A. (2005). *TOXIC: Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*. Åbo Akademi University Press (Turku).

Meriluoto, J. (1997). Chromatography of microcystins. *Analytica Chimica Acta*, **352**, 277-298

Meriluoto, J.; Lawton, L.; Harada, K.I. (2000). Isolation and Detection of Microcystins and Nodularins, Cyanobacterial Peptide Hepatotoxins. *Methods in Molecular Biology*, **145**, 65-87.

Metcalf & Eddy (2003). *Wastewater Engineering. Treatment and Reuse*. Fourth Edition. New York: McGrawHill. pp. 419, 1197, 1123, 1309

Mez, K.; Beattie, K.A.; Codd, G.A.; Hanselmann, K.; Hauser, B.; Naegeli, H.; Preisig, H.R. (1997). Identification of a microcystin in benthic cyanobacteria linked to cattle deaths on alpine pastures in Switzerland. *European Journal of Phycology*, **32**, 111–117.

Miller, M.J. e Fallowfield, H.J. (2001). Degradation of cyanobacterial hepatotoxins in batch experiments. *Water Science and Technology*, **43**, 229 – 232.

Mills, A.; Davies, R.H.; Warsley, D. (1993). Water Purification by Semiconductor Photocatalysis. *Chemical Society Reviews*, 417-425

Mills, G. & Hoffmann, M. R. (1993). Photocatalytic degradation of pentachlorophenol on TiO₂ particles: Identification of intermediates and mechanism of reaction. In Lasa, H.; Serrano, B.; Salaices, M. (2005). *Photocatalytic Reaction Engineering*. USA: Springer Science. pp. 1-4, 16, 17

Moore, R.; Clarck, WD.; Starn, K.R. (1995) Botany. In Andrade, M.S.B (2007). *Avaliação de efeitos citotóxicos, morfológicos e ultrastruturais de microcistinas em células Vero*. Tese de Mestrado. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.

Mouchet, P. & Bonnélye, V. (1998). Solving algae problems: French expertise and world-wide applications. In Svrcek, C. & Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185.

Munter, R.; Preis, S.; Kallas, J.; Trapido, M.; Veressinina, Y. (2001). Advanced oxidation processes (AOPs): water treatment technology for the twenty-first century. *Kemia-Kemi*, **28**, 354–362.

Muntisov, M. & Trimboli, P. (1996). Removal of algal toxins using membrane technology. *Water Journal Australian Water Association*. 23, 34.

Nakano, K.; Lee, T.J.; Matsumura, M. (2001). In situ algal bloom control by the integration of ultrasonic radiation and jet circulation to flushing. *Environmental Science and Technology*, **35**, 4941–4946.

Neumann, U. & Weckesser, J. (1998). Elimination of microcystin peptide toxins from water by reverse osmosis. *Environmental Toxicology and Water Quality*, **13**, 143–148.

Newcombe, G & Burch, M. (2003). Toxic blue-green algae: coming to a neighborhood near you? Opflow. *American Water Works Association*, **29**, 1, 4–6.

Newcombe, G. & Nicholson, B.C. (2002). Treatment options for the saxitoxin class of cyanotoxins. *Water Science and Technology: Water Supply*, **2**, 271–275.

Newcombe, G.; Brooke, S.; Cullum, P.; Nicholson, B.C.; Slyman, N. (2002). Oxidation, adsorption and biological treatment for algal toxin removal. In Svrcek, C. & Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185.

NHMRC & ARMCANZ. (2001). Australian drinking water guidelines. In Svrcek, C. & Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185

Nicholson, B.C.; Rositano, J.; Burch, M.D. (1994). Destruction of cyanobacterial peptide hepatotoxins by chlorine and chloramine. *Water Research*, **28**, 1297–1303.

Nicholson, B.C.; Rositano, J.; Humpage, A.R.; Burch, M.D. (1993). Removal of Algal Toxins in Water Treatment Processes. In Boas, E.M. (1999). *A influência da temperatura, da intensidade luminosa e de coagulantes/floculantes na libertação e degradação das microcistinas por Microcystis aeruginosa Kützinger ex Lemmermann (Cianobactéria: Chroococcales)*. Tese de Mestrado. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.

Nicholson, B.C.; Shaw, G.R.; Morrall, J.; Senogles, P.J.; Woods, T.A.; Papageorgiou, J.; Kapralos, C.; Wickramasinghe, W.; Davis, B.C.; Eaglesham, G.K.; Moore, M.R. (2003). Chlorination for degrading saxitoxins (paralytic shellfish poisons) in water. *Environmental Technology*, **24**, 1341–1348.

Nogueira, C.M. (2010). *Ação de micro e nanopartículas de dióxido de titânio sobre a resposta inflamatória no intestino delgado de camundongos*. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina de Universidade de São Paulo.

Ohno, T.; Sarukawa, K.; Tokieda, K.; Matsumura, M. (2001). Morphology of TiO₂ photocatalyst (Degussa, P-25) consisting of anatase and rutile crystalline phases. In Al-Rasheed; R. A. (2005). *Water Treatment by Heterogeneous Photocatalysis an Overview*. Jeddah: Saline Water Conversion Corporation Acquired Experience Symposium.

Palaez, M.; De La Cruz, A. A.; Stathatos, E.; Falaras, P.; Diounysiou, D. D. (2009). Visible light-activated N-F-codoped TiO₂ nanoparticles for the photocatalytic degradation of microcystin-LR in water. *Catalysis Today*, **144**, 19-25.

Park, H.D.; Sasaki, Y.; Maruyama, T.; Yanagisawa, E.; Hiraishi, A.; Kato, K. (2001). Degradation of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by a new bacterium isolated from a hypertrophic lake. *Environmental Toxicology*, **16**, 337–343.

Pearson, L.; Mihali, T.; Moffitt, M.; Kellmann, R.; Neilan, B. (2010). Review on the Chemistry, Toxicology and Genetics of the Cyanobacterial Toxins, Microcystin, Nodularin, Saxitoxin, Cylindrospermopsin. *Maine. Drugs*, **8**, 1650-1680.

Pichat, P. (2007). A brief overview of photocatalytic mechanisms and pathways in water. In Antoniou, M. G.; Shoemaker, J. A.; De La Cruz, A. A.; Diounysiou, D. D. (2008a). LC/MS/MS

structure elucidation of reaction intermediates formed during the TiO₂ photocatalysis of microcystin-LR. *Toxicon*, **51**, 1103-1118.

Pruden, A. L. & Ollis, D. F. (1983). Photoassisted heterogeneous catalysis: The degradation of trichloroethylene in water. In Chen, D.; Sivakumer, M.; Ray, A. K. (2000). Heterogeneous Photocatalysis in Environmental Remediation. *Chemical Engineering and Mineral Processing*, **8**, 505-550.

Qiao, R.; Li, N.; Qi, X.; Wang, Q.; Zhuang, Y. (2005). Degradation of microcystin-RR by UV radiation in the presence of hydrogen peroxide. *Toxicon*, **45**, 745-752.

Rapala, J.; Lahti, K.; Räsänen, L.A.; Esala, A.-L.; Niemelä, S.I.; Sivonen, K.(2002). Endotoxins associated with cyanobacteria and their removal during drinking water treatment. *Water Research*, **36**, 2627–2635.

Rapala, J.; Lahti, K.; Sivonen, K.; Niemelä, S.I. (1994). Biodegradability and adsorption on lake sediments of cyanobacterial hepatotoxins and anatoxin-a. *Letters in Applied Microbiology*, **19**, 423–428.

Ressom, R.; Soong, F.S.; Fitzgerald, J.; Turczynowicz, L.; El Saadi, O.; Roder, D.; Maynard, T.; Falconer, I. (1994). Health effects of toxic cyanobacteria (blue-green algae). In Svrcek, C. & Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185.

Rivasseau, C.; Martins, S.; Hennion, M. (1998). Determination of some physicochemical parameters of microcystins (cyanobacterial toxins) and trace level analysis in environmental samples using liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, **799**, 155-169.

Robertson, P.K.J.; Lawton, L. A.; Cornish, B.J.P.A.; Jaspars, M. (1998). Processes influencing the destruction of microcystin-LR by TiO₂ photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **16**, 215-219.

Robertson, P.K.J.; Lawton, L. A.; Munch, B.; Rouzade, J. (1997). Destruction of cyanobacterial toxins by semiconductor photocatalysis. *Chemical Communications*, **4**, 393-394.

Rositano & Nicholson (1994). Water treatment techniques for removal of cyanobacterial toxins from water. In Svrcek, C. & Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185

Rositano, J., Nicholson, B.; Pieronne, P. (1998). Destruction of cyanobacterial toxins by ozone. *Ozone Science & Engineering*, **20**, 223–238.

Rositano, J.; Newcombe, G.; Nicholson, B.; Sztajn bok, P. (2001). Ozonation of NOM and algal toxins in four treated waters. *Water Research*, **35**, 23–32.

Schwi tzgebel, J.; Ekerdt, J.G.; Gerischer, H.; Heller, A. (1995). Role of oxygen molecule and of the photogenerated electron in TiO₂-photocatalyzed air oxidation reactions. In Antoniou, M. G.; Shoemaker, J.A.; De La Cruz, A. A; Diounysiou, D. D. (2008a). LC/MS/MS structure elucidation of reaction intermediates formed during the TiO₂ photocatalysis of microcystin-LR. *Toxicon*, **51**, 1103-1118.

Schmidt, W.; Willmetzer, H.; Bornmann, K.; Pietsch, J. (2002). Production of drinking water from raw water containing cyanobacteria – pilot plant studies for assessing the risk of microcystin breakthrough. *Environmental Toxicology*. **17**, 375–385.

Sclafani, A.; Palmisano, L., Davì, E. (1991). Photocatalytic degradation of phenol in aqueous polycrystalline TiO₂ dispersions: the influence of Fe³⁺, Fe²⁺ and Ag⁺ on reaction rate. In Teixeira, C.A.B.; Jardim, W.F. (2004). *Caderno Temático Volume 03. Processos Oxidativos Avançados. Conceitos teóricos*. Campinas: UNICAMP

Senogles, P.; Shaw, G.; Smith, M.; Norris, R.; Chiswell, R.; Mueller, J.; Sadler, R.; Eaglesham, G. (2000). Degradation of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin from *Cylindrospermopsis raciborskii* by chlorination. *Toxicon*, **38**, 1203–1213.

Senogles-Derham, P.J.; Seawright, A.; Shaw, G.; Wickramasingh, W.; Shahin, M. (2003). Toxicological aspects of treatment to remove cyanobacterial toxins from drinking water determined using the heterozygous P53 transgenic mouse model. *Toxicon*, **41**, 979–988.

Sens, M. L. (2006). Filtração em margem como pré-tratamento à filtração direta para remoção de microalgas, cianobactérias e cianotoxinas. *Projecto piloto integrado no Programa de Pesquisas em Saneamento Básico*. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis.

Shaw, G.R.; Shen, X.; Wickramasinghe, W.; Senogles, P.; Eaglesham, G.K.; Lam, P.K.S.; Moore, M.R. (2001). Toxicological aspects of byproducts of chlorination of the cyanobacterial toxin, cylindrospermopsin. *Toxicology*, **164**, 174.

Shawwa, A. & Smith, D.W. (2001). Kinetics of microcystin-LR oxidation by ozone. *Ozone Science & Engineering*, **23**, 161–170.

Shephard, G. S.; Stockenstrom, S.; De Villiers, D.; Engelbrecht, W. J.; Syadenham, E.W.; Wessels, G.F.S. (1998). Photocatalytic Degradation of Cyanobacterial Microcystin Toxins in Water. *Toxicon*, **36**, 1895-1901.

Shephard, G. S.; Stockenstrom, S.; De Villiers, D.; Engelbrecht, W. J.; Syadenham, E.W.; Wessels, G.F.S. (2002). Degradation of microcystin toxins in a falling film photocatalytic reactor with immobilized titanium dioxide catalyst. *Water Research*, **36**, 140-146.

Shi, H.; Qu, J.; Wang, A.; Ge, J. (2005) Degradation of microcystins in aqueous solution with in situ electrogenerated active chlorine. *Chemosphere*, **60**, 326-333.

Simpson, M.R. & MacLeod, B.W. (2002). An integrated approach to algal by-products including bench scale evaluation of nanofiltration for microcystin removal. In Svrcek, C. & Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185.

Sirtori, C. (2006). *Estudo da Potencialidade do Processo Fotoelectroquímico para Remediação de Águas Contaminadas por Cianobactérias*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná. Curitiba.

Sivonen, K. & Jones, G. (1999). Cyanobacterial toxins. In Chorus, I. & Bartram, J. (1999). Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring, and management. New York: E & FN Spon pp. 41–111.

Smith, D.P.; Falls, V.; Levine, A.D.; MacLeod, B.W.; Simpson, M.; Champlin, T.L. (2002). Nanofiltration to augment conventional treatment for removal of algal toxins, taste and odor compounds, and natural organic matter. In Svrcek, C. & Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185.

Svrcek, C. & Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185.

Takeuchi, N.; Kohshima, S.; Seko, K. (2001). Structure, formation, and darkening process of albedo-reducing material (cryoconite) on a Himalayan glacier: a granular algal mat growing on the glacier. In Svrcek, C. & Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185.

Tariq, M.A.; Faisal, M.; Saquib, M. (2006) Heterogeneous photocatalytic degradation of na anthraquione and a triphenylmethane dye derivative in aqueous suspensions of semiconductor. In K. Santos, S.(2007). *Processo Fotocatalítico Acoplado à Microfiltração para Degradação de Poluentes Orgânicos Recalcitrantes*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Teixeira, C.A.B. & Jardim, W.F. (2004). *Caderno Temático Volume 03. Processos Oxidativos Avançados. Conceitos teóricos*. Campinas: UNICAMP

Terzian, R., Serpone, N.; Minero, C.; Pelizzetti, E. (1991). Photocatalyzed mineralization of cresols in aqueous with irradiated titania. In Lasa, H.; Serrano, B.; Salaices, M. (2005). *Photocatalytic Reaction Engineering*. USA: Springer Science. pp. 1-4, 16,17

Tseng, J. & Huang, C.P. (1990). Mechanistic aspects of the photocatalytic oxidation of phenol in aqueous solutions. In Teixeira, C.A.B.; Jardim, W.F. (2004). *Caderno Temático Volume 03. Processos Oxidativos Avançados. Conceitos teóricos*. Campinas: UNICAMP

Tsuji, K.; Nalto, S.; Kondo, F.; Ishikawa, N.; Watanabe, M.F.; Suzuki, M., and Harada, K. I. (1994). Stability of microcystins from cyanobacteria: effect of light on decomposition and isomerization. *Environmental Science and Technology*, **28**, 173–177.

Tsuji, K.; Watanuki, T.; Kondo, F.; Watanabe, M.F.; Nakazawa, H.; Suzuki, M., Uchida, H.; Harada, K. (1997). Stability of microcystins from cyanobacteria–IV. Effect of chlorination on decomposition. *Toxicon*, **35**, 1033–1041.

Turchi, C.S. & Ollis, D.F. (1990). Photocatalytic degradation of organic water contaminants: Mechanisms involving hydroxyl radical attack. In Lasa, H.; Serrano, B.; Salaices, M. (2005). *Photocatalytic Reaction Engineering*. USA: Springer Science. pp. 1-4

USEPA: United States Environmental Protection Agency (2007) Draft Toxicological Reviews of Cyanobacterial Toxins: Anatoxin-a, Cylindrospermopsin and Microcystins LR, RR, YR and LA. In Svrcek, C. & Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185

Vasconcelos, V. & Pereira, E. (2002). Qualidade biológica de águas superficiais. Estudo da Comunidade fitoplanctónica na albufeira do torrão (rio Tâmega). In Diogo, P.A.M (2008). *Fontes de fósforo total e o estado trófico de albufeiras em Portugal Continental*. Tese de Mestrado. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa.

Vasconcelos, V.M.O. (1995). *Toxicologia de Cianobactérias. Distribuição de cianobactérias tóxicas e suas toxinas em águas doces portuguesas. Bioacumulação em bivalves*. Dissertação de Doutoramento. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.

Vasconcelos, VM. (1999). Cyanobacterial toxins in Portugal: effects on aquatic animals and risk for human health. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **32**, 249-254.

Vasconcelos, VM. (2006). Eutrophication, toxic cyanobacteria and cyanotoxins: when ecosystems cry for help. *Limnetica*, **25**, 425-432.

Veiga, S.M.F. (2009). *Porta substrato para um sistema de pulverização catódica. Aplicação na obtenção de TiO₂*. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa.

Vilela, W.F.D. (2009). *Estudo da Degradação da [D-Leu]-Microcistina-LR por Fotocatálise Heterogênea Solar*. Dissertação de Mestrado. Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo.

Vohra, M.S. & Davis, A.P. (1993). Photocatalytic oxidation: the process and its practical applications. In Teixeira, C.A.B. & Jardim, W.F. (2004). *Caderno Temático Volume 03. Processos Oxidativos Avançados. Conceitos teóricos*. Campinas: UNICAMP

Wang, A.M.; Qu, J.H.; Shi, H.X.; Ru, J.; Liu, H.J.; Lei, P. J. (2005). Degradation of microcystins by electron-Fenton reaction using an activated carbon fiber cathode in Li, D.; Qu, J. (2009). The progress photocatalytic technologies in water purification: A review. *Journal of Environmental Science*, **21**, 713-719.

Warhurst, A.M.; Ragget, S.L.; McConnachie, G.L.; Pollard, S.J.T.; Chipofya, V.; Codd, G.A. (1997). Adsorption of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin-LR by a low-cost activated carbon from the seed husks of the pan-tropical tree, *Moringa oleifera*. *Science of the Total Environment*, **207**, 207–211.

Wassmann P. & Olli K. (2004). Drainage basin nutrient inputs and eutrophication: an integrated approach. University of Tromsø, Norway. In Andrade, M.S.B (2007). *Avaliação de efeitos citotóxicos, morfológicos e ultraestruturais de microcistinas em células Vero*. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.

Water Services Association of Australia (WSAA). The Destruction of Cyanobacterial Peptide Toxins by Oxidants used in Water Treatment, Report No WSAA 110, 1996, Consultado em Novembro de 2010: <http://www.fwr.org/wsaa/wsaa110.htm>

Wei, T. Y. & Wan, C.C. (1991). Heterogeneous photocatalytic oxidation of phenol with titanium dioxide powders. In Teixeira, C.A.B. & Jardim, W.F. (2004). *Caderno Temático Volume 03. Processos Oxidativos Avançados. Conceitos teóricos*. Campinas: UNICAMP

Welker, M. & Steinberg, C. (1999). Indirect photolysis of cyanotoxins: one possible mechanism for their low persistence. *Water Research*, **33**, 1159–1164.

- Welker, M. & Steinberg, C. (2000). Rates of humic substance photosensitized degradation of microcystin-LR in natural waters. *Environmental Science and Technology*, **34**, 3415–3419.
- Westrick, J.A.; Szlag, D.C.; Southwell, B.; Sinclair, J. (2010). A review of cyanobacterial and cyanotoxins removal/inactivation in drinking water treatment. *Anal Bioanal Chem*, **397**, 1705-1714
- Wetzel, R.G. (1993). Limnologia. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa. In Andrade, M.S.B (2007). *Avaliação de efeitos citotóxicos, morfológicos e ultraestruturais de microcistinas em células Vero*. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.
- WHO (1998). *Guidelines for drinking water quality*. 2nd ed. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- WHO (2008). *Guidelines for drinking-water quality [electronic resource]: incorporating 1st and 2nd addenda*, Vol.1, Recommendations. – 3rd edition.
- Xie, L.; Xie, P.; Li, S.; Tang, H.; Liu, H. (2003). The low TN:TP ratio, a cause or a result of *Microcystis* blooms? *Water Research*. **37**, 2073–2080.
- Yamazaki, S.; Matsunaga, S.; Hori, K. (2001). Photocatalytic degradation of trichloroethylene in water using TiO₂ pellets. In Vilela, W.F.D. (2009). *Estudo da Degradação da [D-Leu]-Microcistina-LR por Fotocatálise Heterogênea Solar*. Dissertação de Mestrado. Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo.
- Yang, J.; Chen, D.; Deng, A.; Fang, Y.; Luo, G.; Li, D.; Li R.; Huang, Y. (2010). Visible light-induced N-doped TiO₂ nanoparticles for the degradation of microcystin-LR. *Science China Chemistry*, **53**, 1793-1800.
- Yasunori, T. (2009). Titanium oxide based visible light photocatalysts: Materials design and application. In Fernandes, M. S. (2010). *Estudo das propriedades ópticas de filmes finos de dióxido de titânio e de dióxido de titânio dopado com azoto. Relatório da actividade desenvolvida no âmbito da bolsa de integração na investigação (BII/CEFITEC/Linha2-3/2009)*. FCT-UNL. Monte da Caparica.
- Zeier, B.; Harrington, G.; Xagorarakis, I. (2003). Inactivation of microcystin-LR by free chlorine in drinking water treatment. In Svrcek, C. & Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185.
- Zhang, C.; Fu, D.; Gu, Z. (2009). Degradation of microcystin-RR using boron-doped diamond electrode. *Journal Hazard Materials*, **172**, 847-853.

Zhou, H. & Smith, D.W. (2001). Advanced technologies in water and wastewater treatment. *Canadian Journal of Civil Engineering*, **28**, 49–66.

Zhu, X.; Feng, X.; Yuan, C.; Cao, X.; Li, J. (2004). Photocatalytic degradation of pesticide pyridaben in suspension of TiO₂: identification of intermediates and degradation pathways. In Feng, X. Rong, F.; Fu, D., Yuan C.; Hu, Y. (2005). Photocatalytic degradation of trace-level of Microcystin-LR by nano-film of titanium dioxide. *Chinese Science Bulletin*, **51**, 1191-1198.

Zurawell, R. (2002). An initial assessment of microcystin in raw and treated municipal drinking water derived from eutrophic surface waters in Alberta. In Svrcek, C. & Smith, D.W. (2004). Cyanobacterial toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. *Journal of Environmental Science*, **3**, 155-185.